



Pedro José de Oliveira Matrizes fibrosas de biopolímeros produzidas por
Ferreira *electrospinning*



Pedro José de Oliveira **Matrizes fibrosas de biopolímeros produzidas por**
Ferreira ***electrospinning***

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Materiais Derivados de Recursos Renováveis, realizada sob a orientação científica do Doutor José António Teixeira Lopes da Silva, Professor Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

o júri

presidente

Doutor Carlos de Pascoal Neto

Professor Catedrático da Universidade de Aveiro

Doutora Maria Helena Mendes Gil

Professora Catedrática da Universidade de Coimbra

Doutor José António Teixeira Lopes da Silva

Professor Auxiliar da Universidade de Aveiro (Orientador)

agradecimentos

O meu agradecimento ao meu orientador pelo apoio na análise de resultados, na resolução de todos os problemas operacionais e na correcção da tese.

Aos meus colegas de laboratório, em especial à Sónia Regina Monteiro, Catarina Ferreira, Fabiane Oliveira e Beatriz Veleirinho por todo o apoio, paciência e toda a sabedoria que me transmitiram.

À minha família, em especial aos meus pais (*Alfredo e Lúcia*) por todo o esforço que desenvolveram para que eu alcançasse este objectivo.

palavras-chave

Electrospinning, fibras, nanotecnologia, biopolímeros, sulfato de dextrano, quitosano, álcool polivinílico.

resumo

O trabalho descreve a preparação e caracterização de matrizes nanofibras obtidas por electrospinning combinando o álcool polivinílico (PVA) como polímero de suporte e o quitosano e o sulfato de dextrano como biopolímeros polieletrólitos com capacidade para conferir potencial bioactividade e propriedades funcionais atractivas. Foram determinadas e caracterizadas as concentrações poliméricas ideais em solução para a preparação das matrizes. Soluções que combinem elevada condutividade eléctrica e viscosidade intermédia revelaram-se mais eficazes para este processo. Concentrações de 9% (m/v) para o PVA, 0,5% (m/v) para o quitosano e 170% (m/v) para o sulfato de dextrano revelaram-se as mais apropriadas para a produção de matrizes variando os diâmetros das suas fibras entre os 160 e os 380 nm. A matriz de PVA é a que mais deformação até ruptura consegue sofrer; a adição de quitosano promove maior resistência à ruptura e a combinação dos três polímeros torna a matriz bastante frágil. A matriz de PVA aparenta ser a mais hidrofílica e com maior capacidade de absorção de água, a adição de quitosano aumenta a hidrofobicidade e diminui a capacidade de absorção de água e o sulfato de dextrano confere hidroflicidade intermédia e absorções de água bastante irregulares.

keywords

Electrospinning, fibers, nanotechnology, biopolymers, dextran sulphate, chitosan, poly(vinyl alcohol).

abstract

This study describes the preparation and characterization of nanofibrous mats obtained by electrospinning (ES) of poly(vinyl alcohol) (PVA) and chitosan in a dilute acetic acid solution (2%(v/v)), and dextran sulphate in aqueous solution. The ideal polymeric concentrations were calculated based on SEM morphology of the fibers. The combination of intermediary viscous and high conductivity solutions appears to be the more appropriated to prepare the nanofibrous mats. The ideal concentrations were 9% (w/v) for PVA, 0.5% (w/v) for chitosan and 170% (w/v) for dextran sulphate; under these conditions the mats were composed by PVA+chitosan and dextran sulphate fibers with 160 and 380 nm average diameter, respectively. PVA matrix seems to be the one which supports higher elongation; PVA+chitosan matrix had the higher tensile strength and Young modulus. PVA+dextran sulphate mats showed intermediate characteristics; those obtained from PVA+chitosan+dextran sulphate were very fragile and showed the worst mechanical properties. PVA matrix also seems to be the most hydrophilic one while the addition of chitosan raises the hydrophobicity of the matrix. Dextran sulphate provides once more intermediary characteristics when added to other mats. The ability to absorb water seems to be higher on the PVA matrix (the most hydrophilic one) and lower on the PVA+chitosan matrix (the most hydrophobic one). Any addition of dextran sulphate provides high heterogeneity in the absorption profile of the fibrous mats.

Abreviaturas e Símbolos

ES	Electrospinning
γ	Tensão superficial
ϵ_r	Constante dieléctrica relativa
η_{sp}	Viscosidade específica
V	Diferença de potencial
E	Campo eléctrico
Q	Carga eléctrica
d	Distância entre pólos
σ	Condutividade eléctrica
Mw	Massa molecular ponderal
SD	Sulfato de dextrano
Q	Quitosano
GA	Grau de acetilação
GD	Grau de desacetilação
PVA	Álcool polivinílico
PE	Polietileno
PVAc	Acetato polivinílico
DP	Grau de polimerização
IV	Infra vermelho
SEM	Microscópio Electrónico de Varrimento

ÍNDICE

Júri	III
Agradecimentos.....	V
Resumo.....	VII
Abstract	IX
Abreviaturas e símbolos	XI
¹ Objectivos	5
² Introdução	7
2.1 Nanotecnologia	7
2.2 Electrospinning.....	9
2.2.1 Polímero	13
2.2.2 Solvente.....	15
2.2.3 Campo Eléctrico	17
2.3 Biopolímeros	20
2.3.1 Sulfato de dextrano	23

2.3.2	Quitosano.....	24
2.4	Polímeros sintéticos	31
2.4.1	Álcool Polivinílico	31
3	Materiais e Métodos	37
3.1	Amostras	37
3.2	Solubilização	38
3.3	Electrospinning	40
3.3.1	Sistema utilizado.....	40
3.3.2	Polímeros e soluções utilizadas	43
3.3.2.1	Álcool polivinílico	43
3.3.2.2	Álcool polivinílico + quitosano	44
3.3.2.3	Sulfato de dextrano	46
3.3.2.4	Álcool polivinílico + sulfato de dextrano	47
3.3.2.5	Álcool polivinílico + quitosano + sulfato de dextrano	48
3.4	Análise ao SEM	49
3.5	Propriedades mecânicas das matrizes	50
3.6	Ângulos de contacto.....	52
3.7	Viscosidade	55
3.8	Condutividade eléctrica.....	57
4	Resultados	59
4.1	Solubilização	59
4.2	Análise por SEM.....	62
4.2.1	Fibras de PVA + quitosano	62
4.2.2	Fibras de sulfato de dextrano	67
4.2.3	Fibras de PVA + sulfato de dextrano.....	72
4.2.4	Fibras de PVA + quitosano + sulfato de dextrano	73
4.3	Propriedades mecânicas das matrizes	76
4.4	Ângulos de contacto.....	80

	4.5 Viscosidade.....	84
	4.5.1 PVA e quitosano.....	84
	4.5.2 Sulfato de dextrano	85
	4.6 Condutividade eléctrica	88
5	Conclusões	91
6	Bibliografia.....	95

1

OBJECTIVOS

Quando matrizes poliméricas são compostas por fibras de micrómetros ou nanómetros de diâmetro podem potenciar características surpreendentes como o reduzido tamanho de poro e o aumento exponencial da sua área superficial em função do volume. Estas características são uma mais valia num vasto campo de aplicações desde matrizes de suporte para tecidos biológicos e aplicações biomédicas, nanofiltros, suportes para libertação controlada de drogas ou mesmo em aplicações têxteis.

Associado a esta tendência de produção de estruturas em escalas nanométricas surge também um interesse crescente na produção de materiais provenientes de fontes renováveis e os biopolímeros estão, cada vez mais, a substituir os polímeros sintéticos devido à sua disponibilidade e biodegradabilidade.

Devido à sua abundância, baixo preço e propriedades específicas o quitosano tem sido bastante usado a nível experimental num diverso campo de aplicações. O quitosano, devido à sua capacidade de ser protonado em soluções

ácidas e se apresentar como um polímero catiónico, possui actividade antimicrobiana contra uma larga gama de organismos e já consta na bibliografia como polímero utilizado na produção de nanofibras por electrospinning. A sua combinação com outros biopolímeros pode revelar uma optimização das características estruturais da matriz fibrosa quando comparada com a matriz de quitosano.

O sulfato de dextrano é, em antagonia com o quitosano, um biopolímero aniónico e possui, entre outras, características funcionais anticoagulantes, antivirais e de inibição de enzimas que têm sido bastante investigadas.

O objectivo principal deste trabalho focou a síntese e optimização de matrizes nanofibrosas de biopolímeros polielectrólitos de cargas opostas, utilizando o electrospinning como técnica de produção. Para isso foram utilizados o quitosano e o sulfato de dextrano como polímeros funcionais além de outros polímeros de suporte não electrólitos.

O estudo englobou factores como características dos polímeros em solução, condições experimentais relacionadas com o sistema de electrospinning e o estudo de matrizes com propriedades de superfície, mecânicas e estruturais (diâmetro de fibra) que poderão ser adequadas à potencial aplicação em suportes para crescimento celular, revestimento ou filtração.

2

INTRODUÇÃO

2.1 Nanotecnologia

Há milhares de anos atrás, alguns filósofos gregos questionavam-se acerca da possibilidade da imensa variedade do mundo que nos rodeia não poder ser reduzida a componentes mais simples. A própria palavra “átomo” vem desse tempo e significa "indivisível". A unidade fundamental de tudo o que existe.

Sabemos, hoje, que o mundo que nos é familiar é formado por átomos, não exactamente aqueles imaginados inicialmente, mas que com eles compartilham o papel de estruturas unitárias fundamentais. Sabemos também que, apesar de tudo, eles são divisíveis.

Os químicos foram-se apercebendo que a melhor maneira de explicar quantitativamente reacções químicas é supondo que estas se dão entre unidades bem definidas de cada composto.

A nanotecnologia nasce da necessidade de descrever a tecnologia que manipula estruturas na escala dos nanómetros. Está associada a diversas áreas de pesquisa e produção (como a medicina, electrónica, ciências computacionais, física, química, biologia e engenharia dos materiais) na escala nanométrica e tem dado um impulso extraordinário à inovação e evolução do conhecimento, marcando presença em quase todas as revistas científicas da actualidade.^[1]

O objectivo da nanotecnologia consiste em criar novos materiais e desenvolver novos produtos e processos baseados na crescente capacidade da tecnologia moderna de ver e manipular átomos e moléculas. Nanotecnologia não é uma tecnologia específica, mas todo um conjunto de técnicas, baseadas na Física, na Química, na Biologia, na Engenharia de Materiais, e nas ciências computacionais, que visam estender a capacidade humana de manipular a matéria até os limites do átomo. As aplicações possíveis incluem: aumentar significativamente a capacidade de armazenamento e processamento de dados dos computadores, criar novos mecanismos para libertação controlada de substâncias químicas envolvendo um processo mais seguro e menos prejudicial ao ser humano dos que os disponíveis hoje em dia, criar materiais mais leves e mais resistentes do que metais e plásticos, inovações em desenvolvimento ou que ainda não foram sequer imaginadas.

Os recursos renováveis têm sido alvo de um enorme interesse, tanto por parte da indústria como por parte dos consumidores. As mudanças climáticas causadas pelas emissões de gases nocivos à camada do ozono, a opinião pública, os impostos e o desejo de reduzir a dependência dos combustíveis fósseis têm sido os principais factores de impulsão deste sector e as contribuições deste tipo de tecnologia na indústria dos recursos renováveis tem sido fundamental para a rentabilidade, economia e viabilidade de novos produtos.

A razão pela qual a nanotecnologia tem tido enormes aplicações é geralmente pragmática: a possibilidade de explicar certos fenómenos termoquímicos, electroquímicos e estruturais só poderá ocorrer a escalas nanométricas.^[2]

2.2 Electrospinning

Apesar de já existir desde 1934, na última década a electrofiação (electrospinning) tem sido alvo de bastante interesse por parte das engenharias de materiais.

O electrospinning consiste na produção de fibras que pode variar entre alguns micrómetros até valores inferiores a 100 nanómetros de diâmetro, a partir de uma solução ou de um fluido fazendo-se valer da força exercida através da indução eléctrica de uma solução. Essas fibras são recolhidas sob a forma de matriz porosa que pode ter inúmeras aplicações em ramos como a química, biologia, medicina e toda uma vasta gama de engenharias (Figura 1).

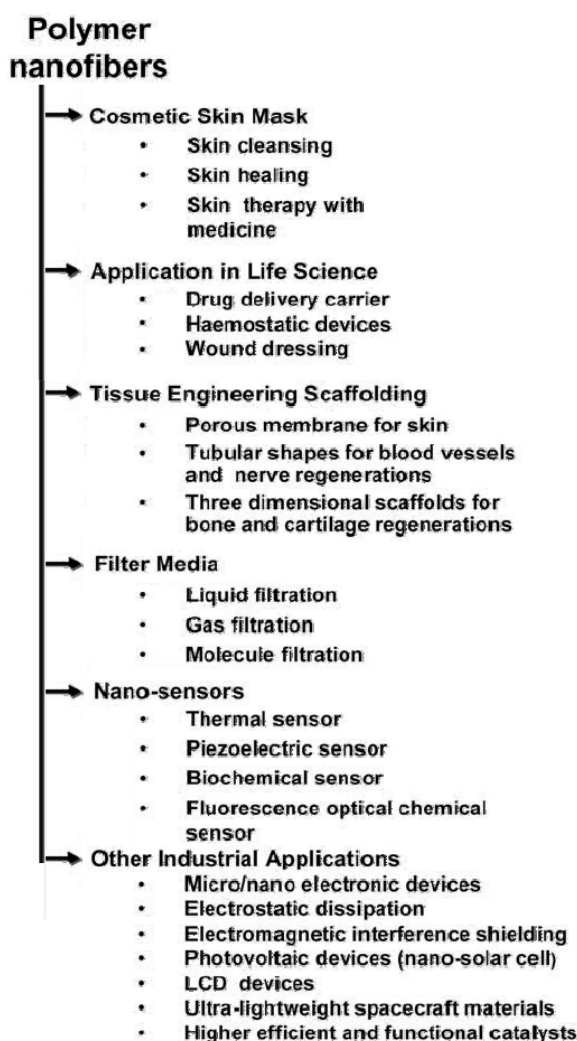


Figura 1: Esquema das potenciais aplicações de nanofibras poliméricas produzidas por ES.^[3]

Um inquérito de publicações relacionadas com electrospinning nos últimos anos é apresentado na Figura 2, enquanto que a distribuição de publicações por todo o mundo é mostrada na Figura 3. Esta informação foi obtida a partir de um sistema de busca de pesquisas literárias científicas.^[3]

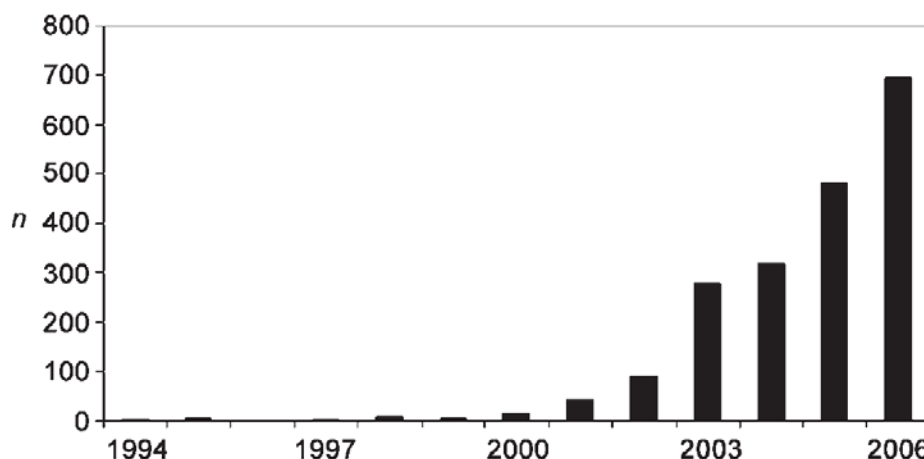


Figura 2: Comparação do número anual de publicações científicas desde que o termo “electrospinning” foi introduzido (início dos anos 90).^[4]

Os dados demonstram claramente que o electrospinning tem atraído cada vez mais atenções durante as últimas década. Até à data, acredita-se que mais de cem diferentes polímeros produziram fibras com sucesso utilizando esta técnica. No entanto, apesar de ser já referenciado há várias décadas na literatura, o seu entendimento ainda é bastante limitado.

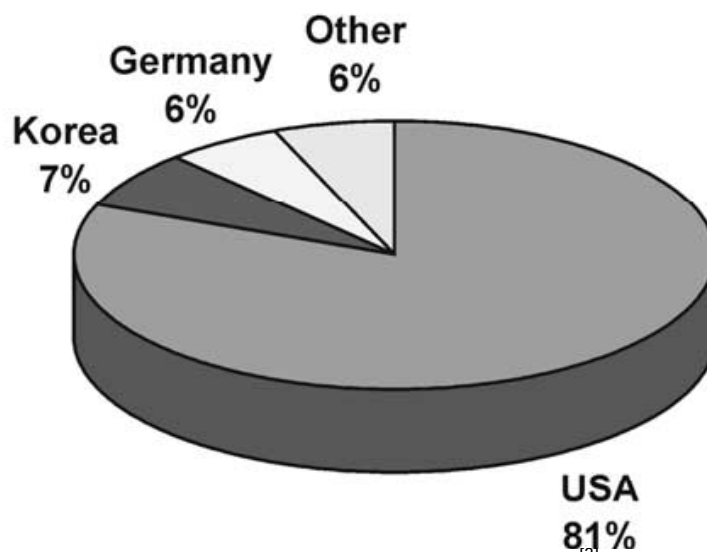


Figura 3: Distribuição mundial das publicações relativas à Figura 2.^[3]

Com dimensões tão reduzidas, as fibras formadas através deste processo resultam em matrizes com enorme área superficial e grande porosidade, tendo estes mesmo poros diâmetros muito reduzidos quando comparados com outros materiais fibrosos (Figura 4). As suas dimensões apresentam-se bastante variadas pelo que esta amplitude pode funcionar como uma mais valia no que toca à sua versatilidade e aplicabilidade.

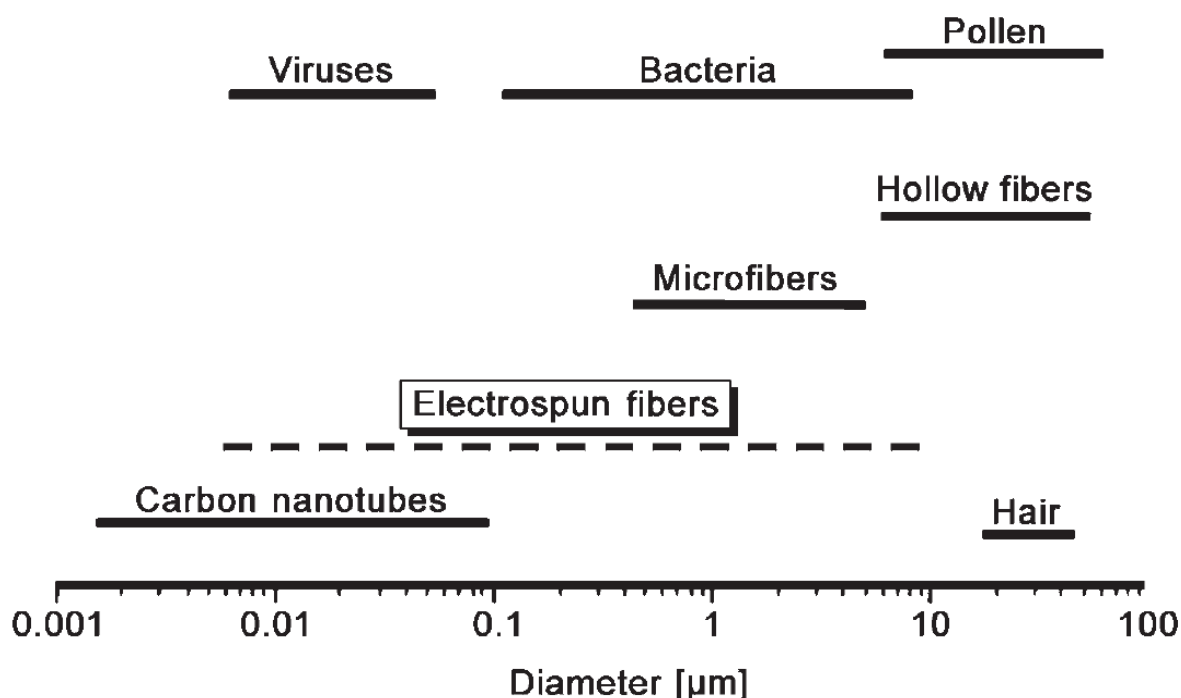


Figura 4: Comparação das dimensões de fibras produzidas por electrospinning com as de objectos biológicos e tecnológicos.^[4]

Estas características fazem destes materiais candidatos bastante atractivos para aplicações como tecidos estruturais de suporte^[5,6], sistemas de libertação controlada de substâncias^[7,8], suportes proteicos^[7], catalizadores enzimáticos, suportes para culturas biológicas^[9], revestimentos biocompatíveis e micro e/ou nanofiltros (Figura 5).

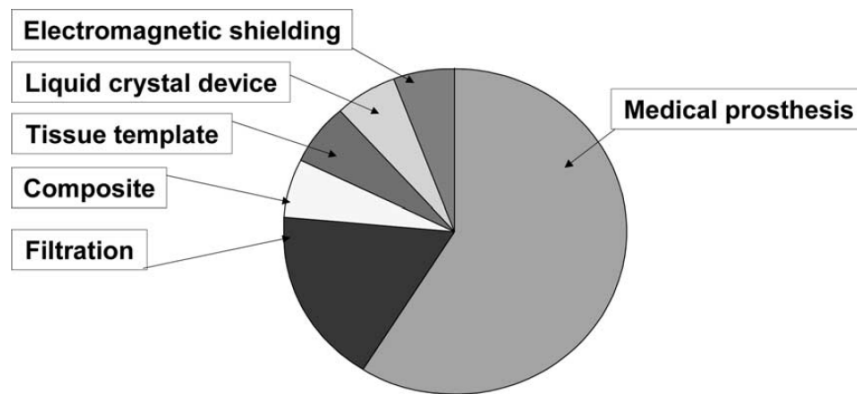


Figura 5: Campos de aplicação de fibras produzidas por ES patenteadas nos Estados Unidos da América.^[3]

O sistema de electrospinning é essencialmente constituído por uma fonte que gera uma diferença de potencial bastante elevada. Esta diferença de potencial origina um campo eléctrico que varia consoante a distância entre os dois pólos.

Um dos pólos é colocado em contacto com a solução (ou fluido) do polímero, enquanto o outro pólo fica ligado ao sistema colector. No esquema representativo da Figura 6 a superfície colectora é um tambor metálico rotativo.

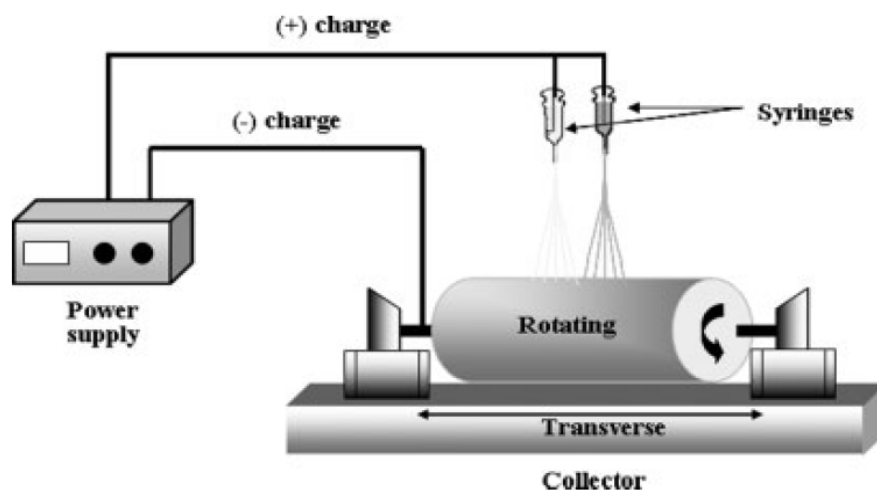


Figura 6: Esquema representativo da formação de fibras por electrospinning (neste caso com duas seringas).^[10]

Os enormes campos eléctricos criados causam uma enorme instabilidade no comportamento dos jactos do polímero (Figura 7) ao serem ejectados da seringa e no seu posterior movimento em direcção ao colector.^[11]

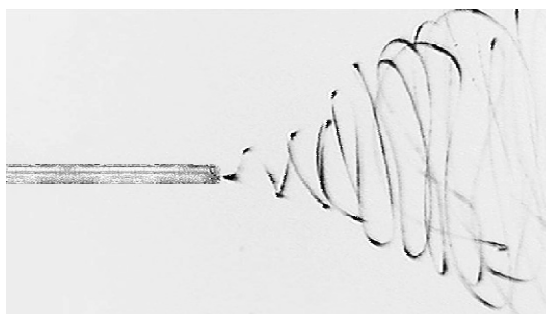


Figura 7: Jacto de fibras produzidas por electrospinning à saída da agulha da seringa.^[11]

Apesar da constante pesquisa desta técnica na última década ainda não foi possível estabelecer uma relação directa e exacta entre as condições a operar e as características finais das fibras obtidas devido ao elevado número de variáveis envolventes. A interacção entre algumas dessas variáveis tornam quase impossível uma previsão exacta dos resultados.^[12]

2.2.1 Polímero

O polímero (ou polímeros) a utilizar é um dos factores mais importantes pois é em função desta variável que todas as outras se vão manifestar.

Em primeiro lugar, e mais importante que tudo, o polímero tem que possuir a capacidade de transportar carga caso contrário a repulsão causada vai ser pequena e torna-se difícil “vencer” a tensão superficial da gota de solução formada na ponta da agulha.

Convém evitar a utilização de polímeros com elevado grau de ramificação pois a formação de fibras é dificultada.^[13]

A concentração também é uma variável importante. A concentração está directamente relacionada com o diâmetro das fibras formadas e inversamente relacionada com a presença e número de grânulos (imperfeições nas fibras que consistem em aglomerados de polímero formando pequenos grãos (Figura 8) e com o diâmetro dos poros (Figura 9). O diâmetro das fibras e dos poros é o principal parâmetro a conseguir controlar numa fase final de formulação uma vez que vai condicionar todas as propriedades finais da matriz de fibras, tanto a nível da porosidade como a nível das características estruturais e funcionais.

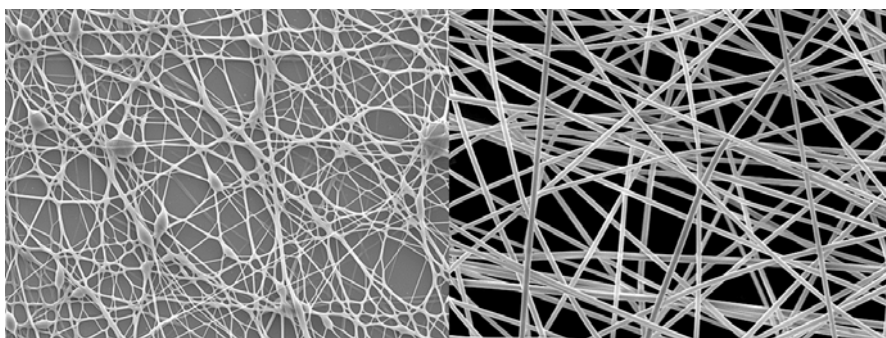


Figura 8: Exemplo de fibras formadas por electrospinning com e sem a presença de grânulos.^[14]

Concentrações muito baixas não permitem que a gota formada à saída da seringa tenha uma quantidade de polímero suficiente para formar uma fibra quando o solvente evaporar; caso isso aconteça o resultado será o “electrospray” que consiste em pequenas gotículas em vez de fibras. Por sua vez, concentrações muito elevadas vão tornar a solução demasiado viscosa. Neste caso o campo eléctrico não terá “força” suficiente para vencer, quer a tensão superficial da gota formada na ponta da seringa, quer a sua viscosidade, e assim “arrancar” (formar) uma fibra.

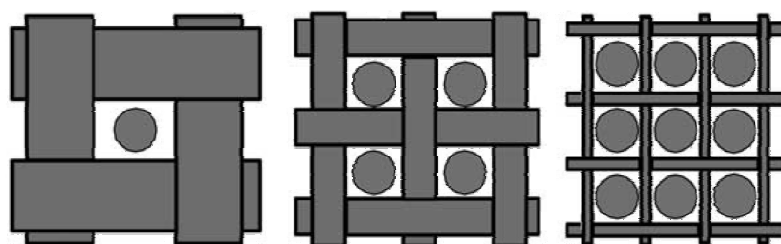


Figura 9: A eficiência de um filtro aumenta com o decréscimo do diâmetro das fibras.^[3]

Muitos polímeros apresentam uma viscosidade específica (η_{sp}) relativamente elevada o que dificulta bastante este processo, tornando-o em muitos casos praticamente impossível.

JIANG et al apresenta-nos (Figura 10) valores de viscosidade de quatro soluções de dextrano com a mesma massa molecular a diferentes concentrações^[15]. Os valores de viscosidade podem “disparar” a partir de certas concentrações.

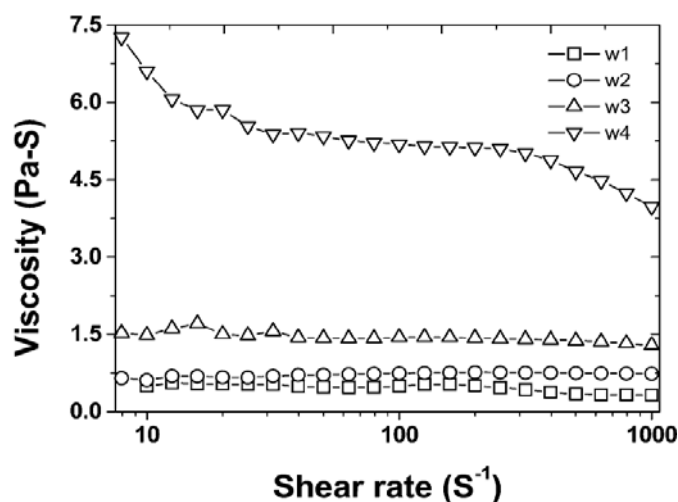


Figura 10: Viscosidade de soluções aquosas de dextrano ($M_w \approx 70000$): w1(0,5 g/mL), w2(0,65 g/mL), w3(0,75 g/mL) e w4(1,0 g/mL).^[15]

Com alguns polímeros, e sendo a viscosidade uma força que se opõe à saída do polímero da seringa, a solução torna-se demasiado viscosa a concentrações mais baixas que aquelas necessárias à formação de fibras. Para vencer este efeito convém utilizar polímeros com uma viscosidade relativamente baixa, sendo a hidrólise parcial do polímero um bom método para diminuir essa viscosidade. Aumentar o campo eléctrico utilizado, ou mesmo, como alguns autores fazem referência, adicionar um sal inorgânico à solução que aumente a sua condutividade também se revelou uma técnica bastante vantajosa.^[16,12]

A viscosidade revela-se uma variável bastante importante, também para a definição das condições limite para formação de fibras. Vários autores referenciam que para cada polímero em solução existe um valor de viscosidade a partir do qual se formam fibras, independente da massa molecular em questão^[14,17]. A viscosidade é uma variável bastante útil no que toca à previsão do comportamento de um polímero através desta técnica seja qual for a massa molecular a utilizar.

2.2.2 Solvente

Em primeiro lugar, o solvente tem que possuir afinidade para o soluto pois a dissolução deste é fundamental. Uma boa alternativa a solutos difíceis de

solubilizar pode passar, mais uma vez, pela hidrólise parcial do polímero. No entanto não nos podemos esquecer que algumas das suas funcionalidades podem ser perdidas após este processo.

Em segundo lugar, e assim como o soluto, é muito importante que o solvente seja condutor. É vantajoso, portanto, a utilização de solventes com constantes dieléctricas (ϵ_r) e/ou momentos de dipolo elevados^[18]. Solventes bastante condutores reduzem a formação de grânulos formados na matriz e o diâmetro das fibras formadas^[19]. Concentrações elevadas de polímeros podem levar à diminuição da condutividade da solução.

Em função da grande concentração de polímero que pode ser necessária, também é vantajoso o solvente possuir uma baixa viscosidade.

A volatilidade do solvente é também crucial. Deve ser utilizado um solvente de elevada volatilidade para que este volatilize antes de chegar ao colector. A presença de solvente no colector pode solubilizar as fibras já formadas danificando a matriz. O ponto de ebulição do solvente é, portanto, um factor sempre a ter em conta.

Na Tabela 1 apresentam-se, como exemplo, as características de determinados solventes utilizados para a formação de fibras de poliestireno por electrospinning.

Os solventes que apresentaram melhores resultados são os que conseguem combinar baixos valores de viscosidade, tensão superficial e ponto de ebulição associados a altos valores de condutividade (constantes dieléctricas e/ou momentos de dipolo elevados).

Numa situação ideal o solvente deveria volatilizar-se na totalidade antes de chegar ao colector. Normalmente, e considerando o que acontece num ensaio bem sucedido, até pode chegar algum solvente à matriz, mas em quantidades muito pequenas não sendo suficiente para solubilizar as fibras já formadas.

A tensão superficial (γ) do solvente, assim como a sua viscosidade, funciona significativamente também como força repressora da formação de fibras. Em muitos casos até, a adição do soluto, ainda que em pequenas quantidades, reduz significativamente a tensão superficial da solução aumentando a volatilidade do solvente e remetendo a tensão superficial do solvente para um papel de

importância menor. No entanto existem casos em que a adição do soluto tem a influência exactamente oposta aumentando a tensão superficial.

Tabela 1: Aptidão de vários solventes para formar fibras de poliestireno por electrospinning.^[20]

R_g = Radius of gyration, T_b = boiling point, ρ = density, μ = dipole moment, γ = surface tension, η = viscosity.

Solvent	R_g 10^{-10} m	MW $G \cdot mol^{-1}$	T_b $^{\circ}C$	ρ $G \cdot cm^{-3}$	μ D	γ $mN \cdot m^{-1}$	η cP	δ at 25 $^{\circ}C$ $MPa^{1/2}$	χ	electrospinnability
Benzene	3.00	78.11	80.10	0.87	0.00	27.57	0.56	18.71	0.34	0.68
Carbon tetrachloride	3.48	153.82	76.80	1.57	0.00	25.69	0.84	17.58	0.38	5.90
Chlorobenzene	3.60	112.56	131.70	1.10	1.69	32.34	0.69	19.26	0.36	5.02
Chloroform	3.25	119.38	61.20	1.47	1.01	26.04	0.51	19.03	0.35	11.87
Cyclohexane	3.24	84.16	80.70	0.77	0.61	24.07	0.84	16.70	0.50	0.00
Decalin	4.21	138.25	191.00	0.88	0.00	30.04	2.92	17.33	0.44	0.00
1,2 dichloroethane	2.83	98.96	83.50	1.24	2.94	31.55	0.72	20.25	0.43	27.45
1,4-dioxane	3.02	88.11	101.30	1.02	0.00	32.21	1.10	20.16	0.42	3.36
DMF	3.03	73.10	153.00	0.94	3.82	33.92	0.79	23.97	1.23	53.61
Ethylacetate	3.47	88.10	77.10	0.89	1.78	22.68	0.40	18.35	0.34	39.54
Ethylbenzene	3.90	106.17	134.00	0.86	0.59	28.04	0.60	18.04	0.36	0.00
Hexane	3.77	86.18	68.70	0.65	0.00	17.45	0.28	14.99	1.03	N/A
MEK	3.14	72.11	79.60	0.79	2.76	23.42	0.38	18.80	0.34	43.53
Nitrobenzene	3.94	123.11	210.80	1.19	4.22	42.66	1.73	22.61	1.00	0.00
<i>t</i> -Butyl acetate	3.85	116.16	94.00	0.86	1.91	21.05	0.53	16.04	0.39	10.67
Tetralin	4.16	132.21	204.00	0.96	0.22	32.69	1.85	19.52	0.69	0.00
THF	2.69	72.11	66.00	0.87	1.63	24.37	0.44	19.13	0.35	33.48
Toluene	3.47	92.14	110.60	0.82	0.36	27.35	0.52	18.35	0.34	1.53

O princípio fundamental de formação da fibra é a existência de polímero suficiente em solução (concentração), viscosidade adequada e um campo eléctrico com força suficiente para vencer a tensão superficial (Figura 11).



Figura 11: Exemplo do comportamento de uma solução à saída da seringa depois de “vencida” a tensão superficial.

2.2.3 Campo Eléctrico

No electrospinning, a geração de carga eléctrica na solução ocorre geralmente em virtude do contacto da mesma com um eléctrodo indutor de carga. Na Equação 1 podemos relacionar facilmente a diferença de potencial (V) com o campo eléctrico (E), uma vez que ambos dependem da constante dieléctrica relativa (ϵ_r) do espaço condutor que neste caso é o ar, da carga eléctrica da solução (Q) e da distância entre os pólos (d).

$$\begin{cases} V = \frac{\varepsilon_r \cdot |Q|}{d} \\ E = \frac{\varepsilon_r \cdot |Q|}{d^2} \end{cases} \Leftrightarrow E = V/d \quad (\text{Equação 1})$$

A diferença de potencial (V) aplicada é um parâmetro fundamental pois vai carregar electricamente a solução e gerar o campo eléctrico (E) (Equação 1). Este vai criar forças de repulsão no pólo positivo proporcionando a migração da solução em direcção ao colector sob a forma de fibras.

Numa primeira instância, e à medida que o campo eléctrico vai aumentando, irá formar-se o chamado “cone de Taylor”^[21] que pode ser visualizado na Figura 12. O campo eléctrico terá que ser tão grande quanto possível de forma a conseguir vencer a tensão superficial da gota da solução que sai na ponta da seringa (Figura 11) e “arrancar” o polímero sob a forma de fibras que serão posteriormente recolhidas num tambor rotativo.

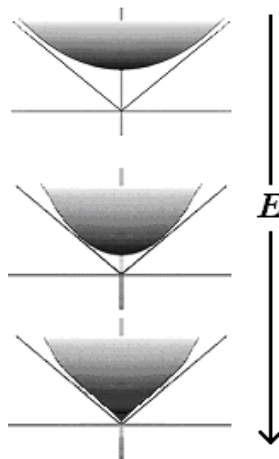


Figura 12: Comportamento da gota de solução à saída da seringa (formação do “cone de Taylor”) com o aumento do campo eléctrico.^[21]

A distância da seringa ao colector (d) é também uma variável que podemos manipular quando já não podemos aumentar o potencial aplicado e queremos aumentar o campo eléctrico. Ao aproximar a agulha do colector é reduzido o valor de d e consequentemente o campo eléctrico aumenta.

Dependendo da natureza da solução e da polaridade do potencial aplicado, são criados electrões livres, iões ou pares de iões como agentes transportadores de carga eléctrica em solução. A criação de agentes transportadores de carga pode ser bastante influenciada pela presença de impurezas em solução.

A formação de iões por indução resulta na formação de uma dupla camada eléctrica. Na ausência de um campo eléctrico a largura desta camada é determinada pela mobilidade dos iões em solução. Na presença de um campo eléctrico, os iões vão ser empurrados para fora do eléctrodo e a camada dupla vai ser repelida continuamente.

No entanto, este processo é geralmente limitado por um campo eléctrico limite máximo, com a sobrecarga eléctrica em ar seco na ordem dos 30 kV/cm. Este processo de indução eléctrica é viável para soluções com condutividades na ordem dos 10^{-2} S/m.^[22]

A utilização de eléctrodos auxiliares foi já referida na literatura para otimizar a recolha das fibras evitando a sua dispersão através das linhas de campo conforme está esquematizado na Figura 13.^[23]

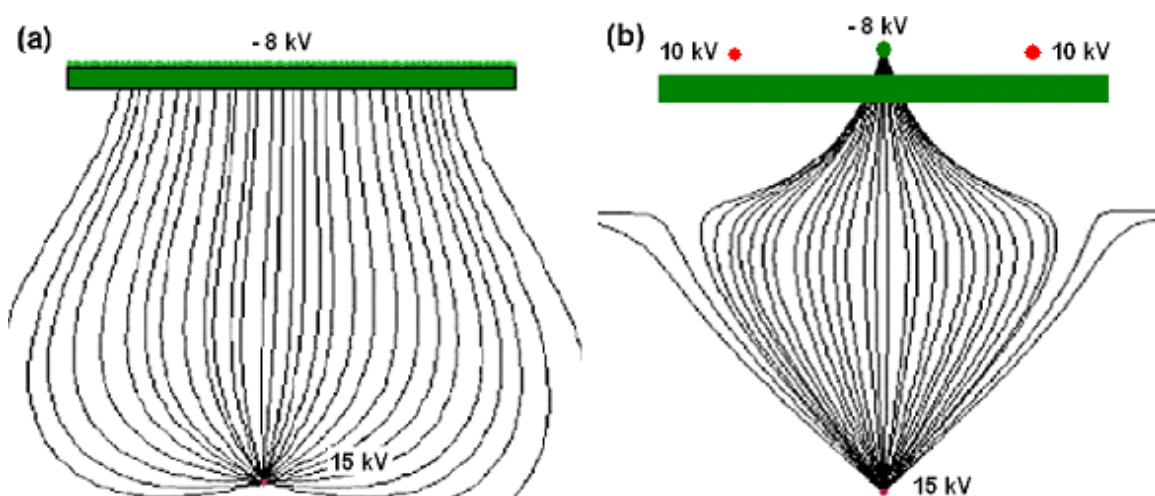


Figura 13: Simulação da força calculada dos vectores de linhas de campo eléctrico entre a agulha e o colector com (b) e sem (a) eléctrodos auxiliares.^[23]

2.3 Biopolímeros

O modelo de desenvolvimento económico que se desenhou nos últimos séculos está muito distante de ser socialmente justo, ecologicamente equilibrado e tão pouco deixa de comprometer as necessidades das futuras gerações. O previsível esgotamento dos recursos fósseis no planeta tem levado, nos últimos anos, as comunidades científica e industrial a investir seriamente na investigação e desenvolvimento de fontes alternativas de energia e em novos produtos e materiais derivados de recursos renováveis, que possam gradualmente substituir os derivados da petroquímica, garantindo assim o desenvolvimento sustentável da humanidade.

A biomassa e, em particular, os biopolímeros associados constituem a alternativa natural para a resolução deste problema, nomeadamente polissacarídeos, lenhina, proteínas, lípidos e derivados, tanto de origem animal como da agricultura ou das indústrias florestais.

Surge portanto um interesse na produção de materiais provenientes de fontes renováveis e os biopolímeros estão, cada vez mais, a imporem-se no mercado em substituição dos polímeros sintéticos devido à sua disponibilidade e biodegradabilidade.^[24]

O facto de conterem monómeros semelhantes, ou mesmo idênticos, aos encontrados nas matrizes orgânicas do organismo reduz a possibilidade de ocorrência de problemas associados à toxicidade dos materiais, ou seus produtos de degradação, ou estimulação de reacções inflamatórias crónicas.^[24]

Recentemente, também a indústria têxtil tem procurado aumentar a funcionalidade dos seus produtos através da fixação ou incorporação de materiais de fontes renováveis, nomeadamente biopolímeros.

A produção de matrizes fibrosas a partir de biopolímeros em escalas nanométricas tem sido alvo de bastante interesse pois possibilita inúmeras funcionalidades, de entre as quais, actividade anti-microbiana, nanofiltração, libertação controlada de agentes, inactivação de enzimas, culturas biológicas, produção de tecidos e muitas outras; tantas quanto uma imaginação direccionada para a ciência possa encontrar aplicação.

Determinadas propriedades da solução de um biopolímero afectam bastante as condições de electrospinning e as características das fibras obtidas. Entre estas encontram-se a concentração e a massa molecular do polímero.

Segundo estudos realizados^[17,14] cada polímero tem um intervalo específico de concentrações para a formação de fibras delimitado por um valor máximo e um mínimo. Esses valores limites de concentração, independentemente dos valores das massas moleculares dos polímeros, aparentam ser unicamente dependentes da interacção das moléculas em solução (Figura 14 e Figura 15), interacções não específicas por simples interlaçamento das cadeias do polímero (“entanglements”) ou interacções mais específicas (por exemplo por pontes de hidrogénio) as quais necessariamente se reflectem na viscosidade da solução (Figura 16).

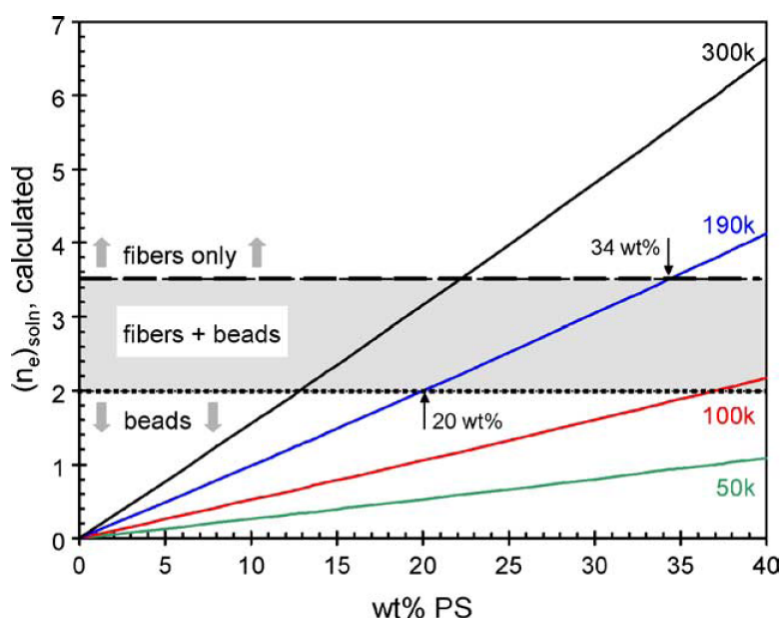


Figura 14: Gráfico da interacção molecular para poliestirenos de diferentes massas moleculares, dissolvidos em tetrahydrofurano (THF), em função da sua concentração e o aspecto final das matrizes obtidas.

$(n_e)_{soln}$ é o número de entrelaçamentos em solução, calculado como $M_w/(M_e)_{soln}$ sendo M_w a massa molecular e $(M_e)_{soln}$ a massa molecular da zona de entrelaçamento.^[17]

Abaixo da viscosidade limite mínima começam a apresentar-se grânulos presentes nas matrizes juntamente com as fibras. Com a formação de grânulos ou pequenas gotículas por este sistema estamos na presença de electrospray. Acima da viscosidade limite máxima temos uma solução tão viscosa que o próprio campo eléctrico aplicado não consegue “arrancar/formar” uma fibra.

As condições a operar passam por encontrar o valor de concentração intermédio em que as fibras vão ter uma aparência mais uniforme (Figura 16).

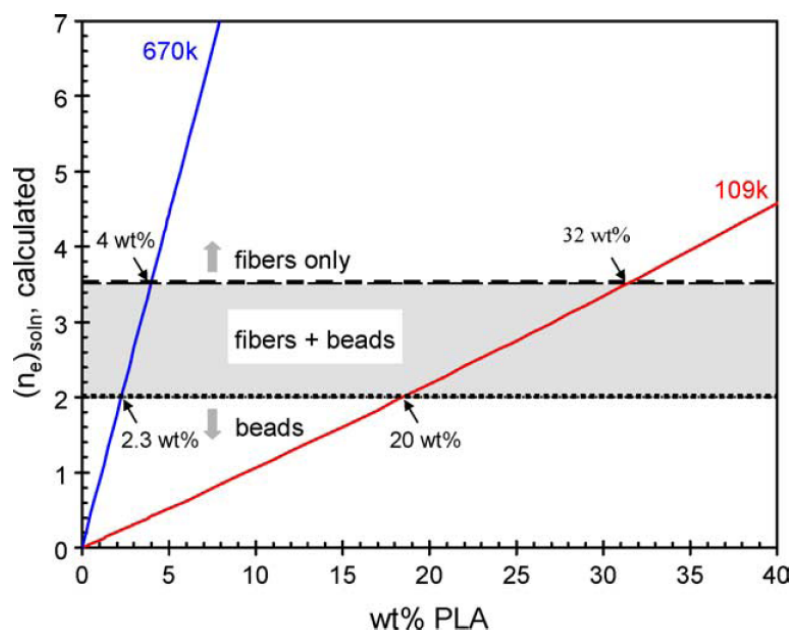


Figura 15: Gráfico da interação molecular de duas massas moleculares de ácido poliláctico em função da sua concentração e o aspecto final das matrizes obtidas.^[17]

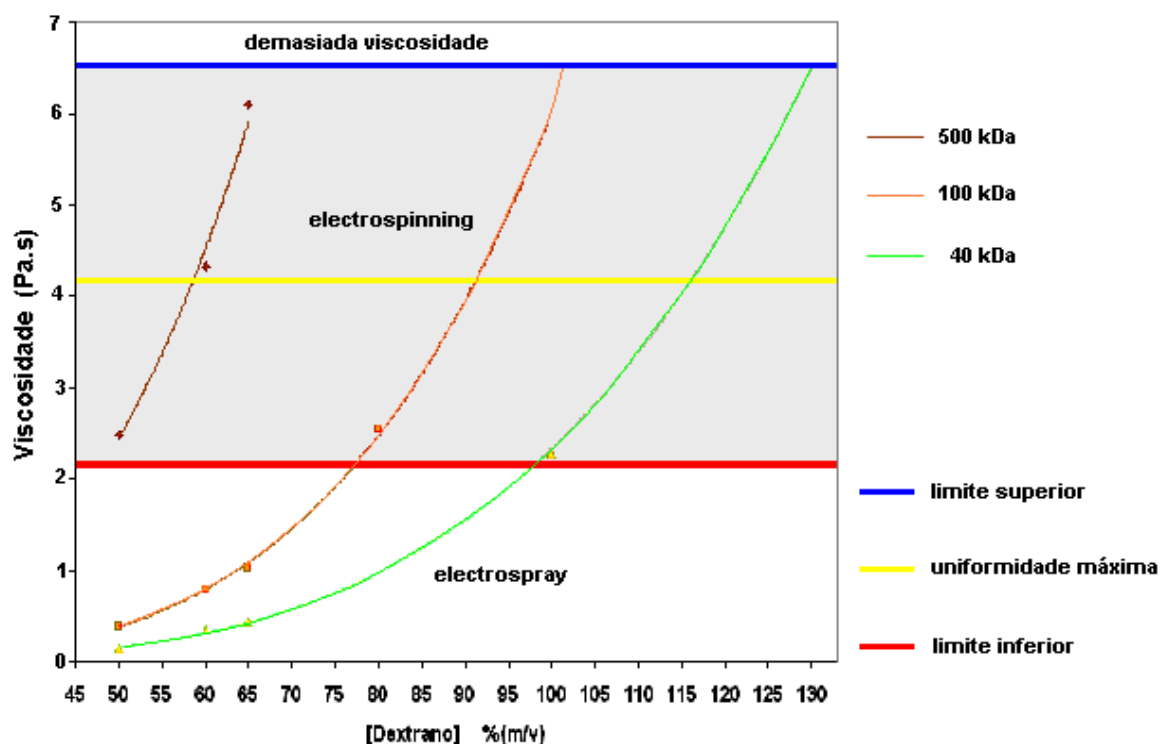


Figura 16: Gráfico da viscosidade de dextranos com diferentes massas moleculares em função da sua concentração e o aspecto final das matrizes obtidas.^[14]

Referem-se seguidamente algumas características dos biopolímeros utilizados neste trabalho, nomeadamente o sulfato de dextrano e o quitosano.

2.3.1 Sulfato de dextrano

O sulfato de dextrano (SD) é um derivado polianiónico do dextrano. É normalmente comercializado como sal de sódio hidrossolúvel e apresenta enorme estabilidade em soluções dentro do intervalo $6,0 < \text{pH} < 7,0$.

O sulfato de dextrano (SD) tem uma estrutura molecular composta por unidades de glucose unidas por ligações $\alpha(1,6)$ e ramificações $\alpha(1,3)$ e $\alpha(1,4)$. Cada unidade glicosídica da cadeia de dextrano tem aproximadamente dois grupos sulfatados, normalmente localizados no segundo e quarto carbonos (C2 e C4) da unidade glicosídica (Figura 17).

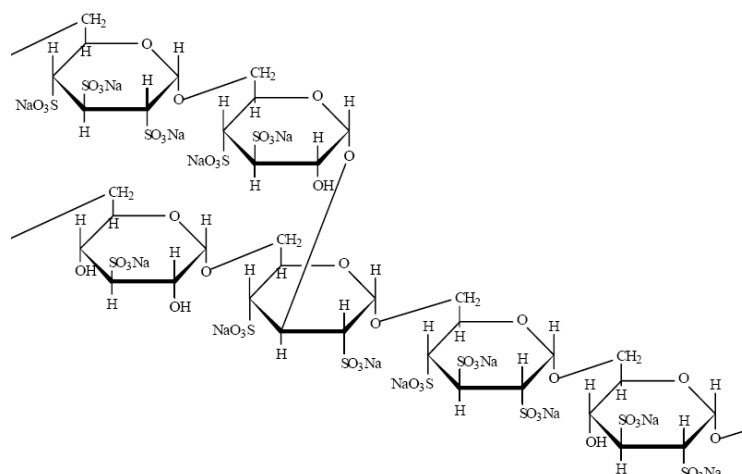


Figura 17: Fracção de uma molécula de sulfato de dextrano com uma ramificação – imagem retirada da ficha de segurança do composto fornecida pela Sigma®.

Este polissacarídeo polianiónico pode ser, assim como o dextrano, de síntese bacteriana ou pode ser sintetizado laboratorialmente. Na síntese bacteriana, as bactérias *Leuconostoc mesenteroides* utilizam a sacarose como percussor para a síntese deste polímero. Laboratorialmente é sintetizado a partir de várias fracções de dextrano muito puras e bem caracterizadas através da sulfatação de uma fracção seleccionada utilizando o ácido sulfúrico ou a N,N-dimetilformamida (Figura 18). O ácido sulfúrico pode também ser aplicado em combinação com álcoois alquílicos em que a degradação do polímero vai ser bastante menor.

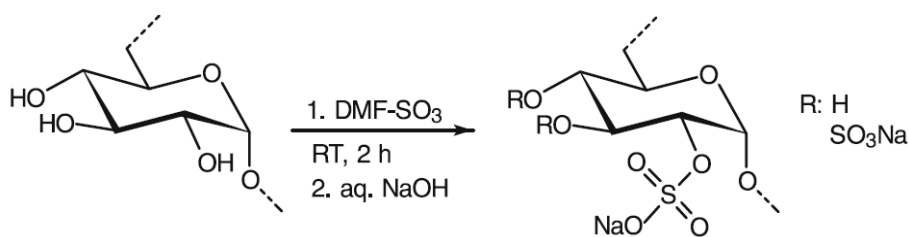


Figura 18: Preparação de sulfato de dextrano utilizando a N,N-dimetilformamida.^[25]

A sua pureza e qualidade reprodutível conferem a este polímero inúmeras aplicações nas indústrias farmacêutica, biotecnológica e cosmética. As suas propriedades têm sido testadas na investigação clínica de anticoagulantes como possível substituto da heparina. O SD exerce também um potente efeito inibitório em muitas enzimas como por exemplo a hialuronidase, a adenilato ciclase e a amilase. Estudos *in vitro* mostraram que o SD inibe a ligação de vários vírus encapsulados incluindo o *herpes simplex*, citomegalovírus e vírus da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA).^[26]

Os SDs de grandes massas moleculares formam complexos insolúveis com lipoproteínas podendo assim contribuir para o isolamento e extracção destas do plasma. Este procedimento é selectivo para as β -lipoproteínas e aparenta ser um processo muito eficaz.^[27]

Até à presente data ainda não existe qualquer publicação conhecida acerca de produção de fibras de SD por electrospinning e por isso torna-se pertinente o estudo desta possibilidade, principalmente quando combinado com outros polímeros electrólitos funcionais como o quitosano.

2.3.2 Quitosano

Antes de referir o quitosano, e para melhor entender a sua natureza, teremos que falar no seu precursor, a quitina.

A quitina é um biopolímero essencialmente de origem animal encontrada na carapaça dos crustáceos, no exoesqueleto dos insectos e também na parede celular de fungos. A fonte comercial mais utilizada são as cascas de crustáceos marinhos (camarão, caranguejo, etc.), devido às largas quantidades disponíveis desta fonte, essencialmente subprodutos de indústrias de processamento alimentar.^[28]

Na Figura 19 apresenta-se a composição aproximada do resíduo seco do cefalotórax de crustáceos e de estiletes de lulas e potas. O miolo dos crustáceos (essencialmente proteínas) é utilizado para a indústria alimentar ficando o restante como resíduo processual.

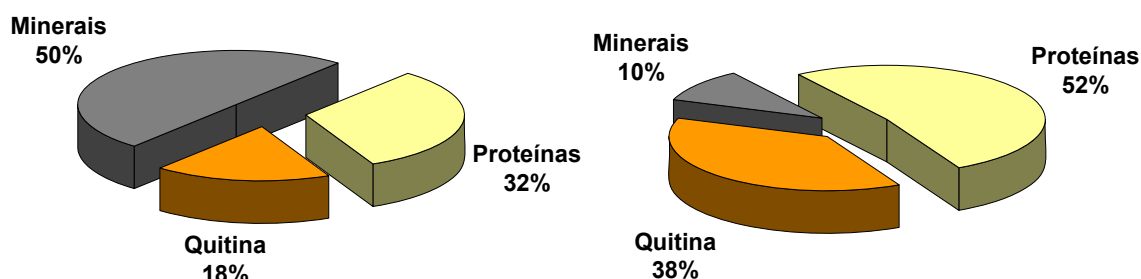


Figura 19: Percentagens dos principais constituintes do resíduo seco do cefalotórax de crustáceos (esquerda) e de estiletes de lulas e potas (direita).^[29]

Este polissacarídeo *N*-acetilado é geralmente considerado a “celulose animal” pois é o segundo biopolímero mais abundante no planeta e a principal fonte de poluição superficial nas zonas costeiras. Esta acumulação poderia ter um impacto ecológico enorme e as águas do mar poderem ficar desprovidas de carbono e azoto num curto espaço de tempo se este polímero simplesmente não pudesse retornar ao ecossistema e permanecesse insolúvel.^[30,31]

É na verdade um co-polímero uma vez que é constituído maioritariamente por unidades de *N*-acetil-glucosamina e algumas unidades de glucosamina unidas entre si por ligações $\beta(1,4)$ (Figura 20).

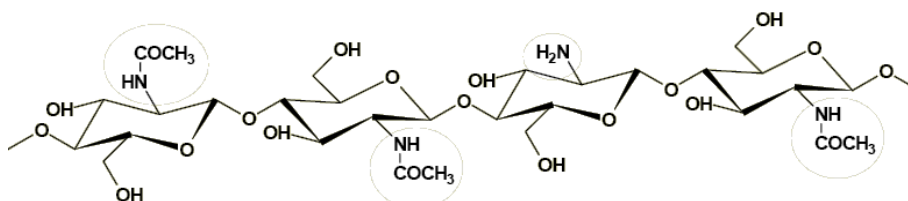


Figura 20: Fracção de uma molécula de quitina.

Embora sendo uma fonte de matéria-prima bastante acessível e com muitas potencialidades, a quitina tem uma aplicação ainda muito reduzida, principalmente devido ao seu difícil tratamento e baixa solubilidade, resultantes da existência de fortes ligações por pontes de hidrogénio entre as cadeias poliméricas^[32]. Uma forma de controlar este problema consiste na desacetilação da quitina, em meio

alcalino forte e a temperaturas superiores a 60 °C (Figura 21). Deste tratamento, resulta o derivado mais importante da quitina, o poli[β -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopirano], mais conhecido por quitosano.^[29]

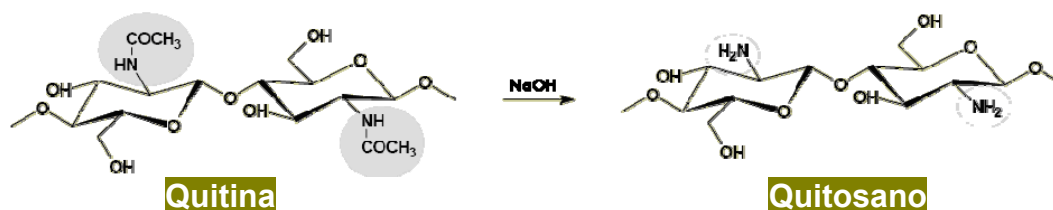


Figura 21: Reacção de desacetilação alcalina da quitina.

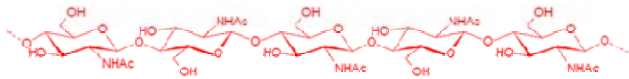
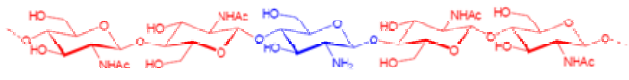
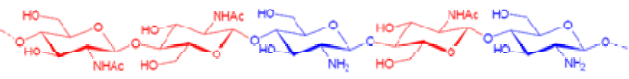
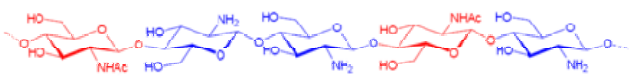
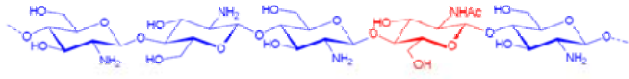
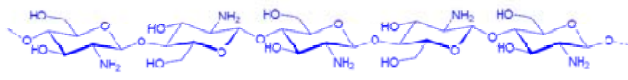
Mesmo utilizando tratamentos alcalinos para promover a desacetilação da quitina, é preciso ter em conta que as condições normalmente utilizadas nestes tratamentos podem, também, conduzir à quebra das ligações glicosídicas, afectando o tamanho das cadeias poliméricas.^[33]

Também se pode optar pela utilização de condições mais suaves de reacção, como a utilização de concentrações de 20 a 30% de NaOH e menores temperaturas, mas tal implica um produto com um grau de desacetilação mais baixo. Isto deve-se, provavelmente, ao facto de que a reacção realizada nestas condições ocorre unicamente nas regiões externas do polímero, que são mais acessíveis aos reagentes não levando a uma desacetilação tão extensa.^[33]

A desacetilação da quitina raramente é completa, embora tal não constitua um problema na maioria dos casos, uma vez que um grau de desacetilação de aproximadamente 60% já permite a solubilização do polímero em soluções ácidas diluídas. Aliás, tem sido este critério de solubilidade o parâmetro adoptado por muitos autores^[34] para distinguir a quitina do quitosano (Tabela 2).

A sua estrutura cristalina é fortemente afectada com a desacetilação uma vez que os seus grupos acetilados favorecem a criação de ligações por pontes de hidrogénio.

Tabela 2: Grau de (des)acetilação como critério de distinção entre a quitina e o quitosano.

		G. A.	G. D.
Quitina		1,00	0,00
Quitina		0,80	0,20
Quitina		0,60	0,40
?		0,40	0,60
Quitosano		0,20	0,80
Quitosano		0,00	1,00

Uma característica importante do quitosano é a sua carga positiva em soluções ácidas tornando possível a sua solubilização em soluções aquosas de ácidos orgânicos, tais como ácido acético, fórmico e cítrico, e em ácidos inorgânicos diluídos como o ácido clorídrico, nítrico e perclórico, devido a protonação dos grupos amina^[35]. Com efeito, em meio ácido tem lugar o seguinte equilíbrio:



A solubilidade do quitosano estará, então, directamente relacionada com a quantidade de grupos amina protonados ($R-NH_3^+$) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos, maior o número de interacções electrostáticas repulsivas entre as cadeias e também maior a solvatação em água^[36,37]. Deste modo, o conhecimento preciso do teor de grupos amina é um factor de grande importância e que poderá condicionar a utilização do quitosano nas suas diferentes aplicações. Esta informação é dada em termos de grau de desacetilação (GD) ou grau de acetilação (GA), sendo o primeiro o mais comum.

Um outro aspecto muito importante, no que diz respeito à solubilidade do quitosano, é a sua massa molecular, que vai depender do método utilizado na desacetilação e da fonte utilizada na sua produção. Torna-se, por isso, importante caracterizar o quitosano quanto à sua massa molecular, utilizando-se para isso métodos como cromatografia de permeação em gel, dispersão da luz (“light scattering”) e viscosimetria.^[36]

A maioria das preparações de quitosano disponíveis comercialmente é desacetilada em mais de 85% e possui massas moleculares entre 100kDa e 1000kDa. Devido à sua abundância, baixo preço e propriedades específicas tem sido bastante usado a nível experimental num diverso campo de aplicações. O quitosano possui actividade antimicrobiana contra uma larga gama de organismos. Esta actividade varia consideravelmente com o tipo de quitosano, com o organismo alvo e com o ambiente em que é aplicado. Quitosanos bastante desacetilados possuem um efeito antimicrobiano bastante superior devido à sua enorme solubilidade e densidade de carga.

Sendo um polímero catiónico, este possui a capacidade de se ligar a muitos componentes dos alimentos como os alginatos, pectinas, proteínas e polieletrólitos inorgânicos. Associado a esta tendência, o quitosano e os seus derivados revelam ser bastante interessantes e com enorme potencial em muitas áreas (Figura 22) como por exemplo: em aplicações biomédicas e farmacêuticas^[38,24,39], nas indústrias químicas, em cosméticos, na optimização da qualidade e segurança alimentar^[40,38,41-43,29,44-46], na purificação de águas, na agricultura^[41-43,29], nas indústrias têxteis e do papel.^[38,42,43,29]

O problema associado à produção de fibras de quitosano por electrospinning é a enorme viscosidade que a solução adquire mesmo a concentrações muito baixas. A concentração mínima para a produção de fibras de quitosano é demasiado elevada para se conseguir dissolver em soluções diluídas de ácido acético. Existem actualmente inúmeras publicações relacionadas com fibras de quitosano obtidas por electrospinning, no entanto todas utilizam soluções ácidas bastante concentradas.^[47,48] Na Figura 23 estão representadas imagens ao SEM de fibras de quitosano produzidas por electrospinning utilizando ácido acético de diferentes concentrações como solvente. Só concentrações na ordem dos 90% (v/v) conseguem dissolver 7% (m/v) de quitosano e produzir fibras bem definidas.

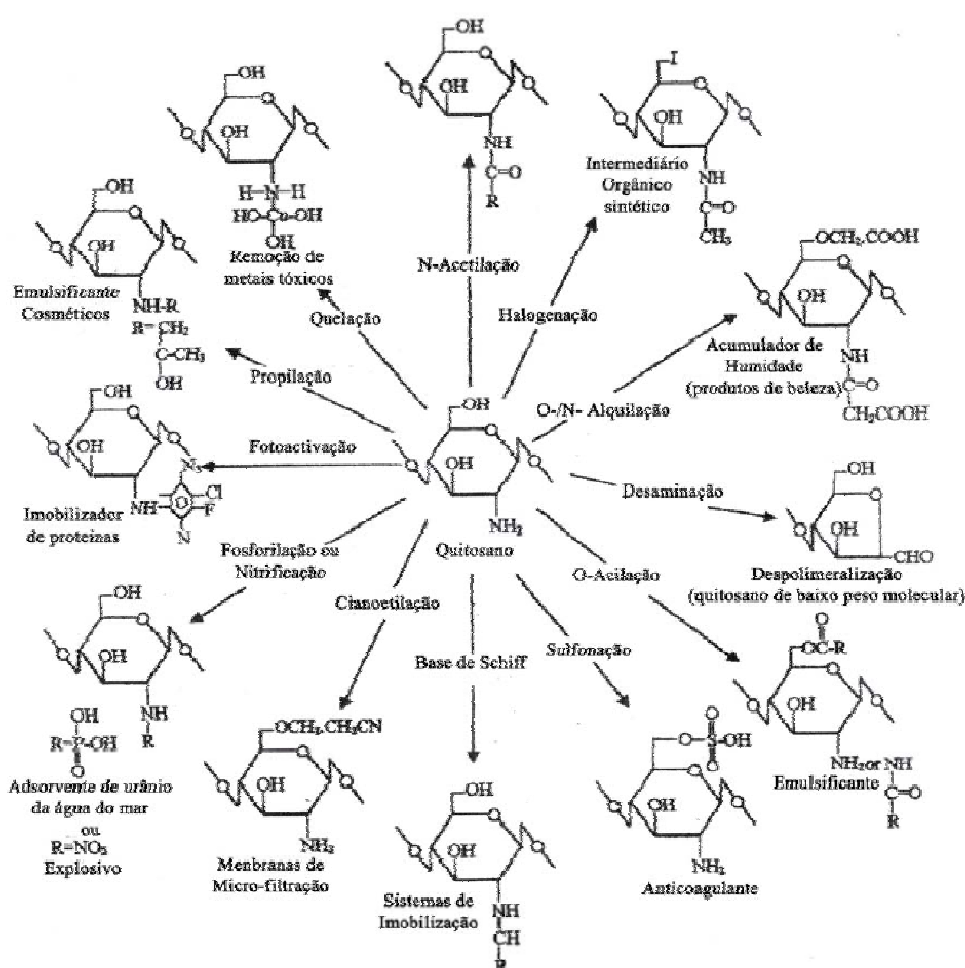


Figura 22: Esquema com alguns dos derivados do quitosano e potenciais aplicações.^[49]

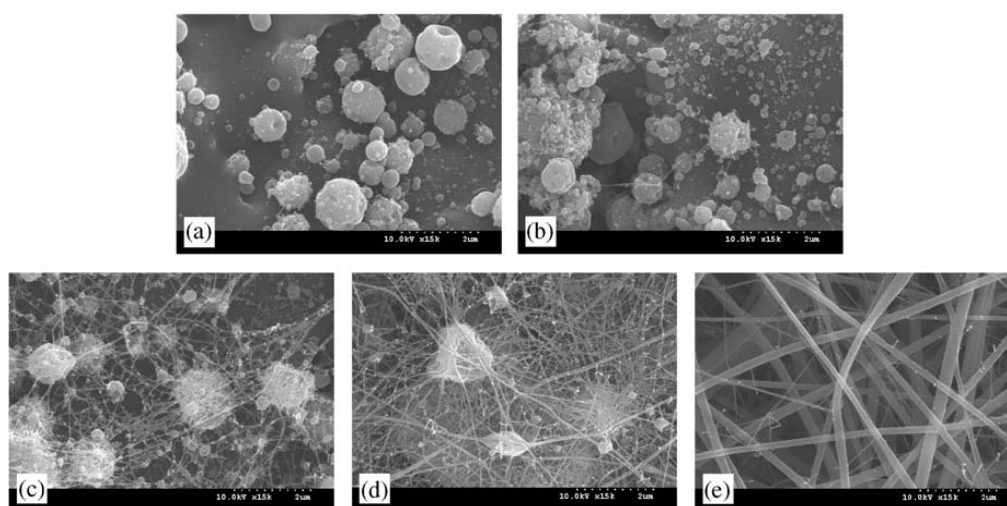


Figura 23: Imagens ao SEM de fibras de quitosano (7,0 % (m/v) e $M_w = 106\,000$ g/mol) produzidas por electrospinning (4 kV/cm) utilizando várias concentrações de ácido acético em água: (a) 10%; (b) 30%; (c) 50%; (d) 70%; (e) 90%.^[48]

Visando a utilização de solventes menos agressivos a alternativa passa por incorporar quitosano em solução a um polímero de suporte para a produção de fibras por electrospinning.

2.4 Polímeros sintéticos

2.4.1 Álcool Polivinílico

O álcool polivinílico (PVA) é um polímero sintético hidrossolúvel geralmente constituído por um grupo hidroxilado em cada unidade vinílica sendo este grupo a única diferença estrutural que o distingue do polietileno (PE) (Figura 24).

A utilização de polímeros sintéticos surge neste trabalho com a necessidade de utilizar uma matriz de suporte para biopolímeros que apresentam alguma dificuldade de manuseamento através do electrospinning.

Apesar de ser um polímero sintético, o PVA é biodegradável^[50,51]. A sua biodegradabilidade associada às suas características mecânicas e à facilidade de formação de fibras, tanto na indústria têxtil como por electrospinning^[52,53], torna-o num polímero mais do que viável para este processo.

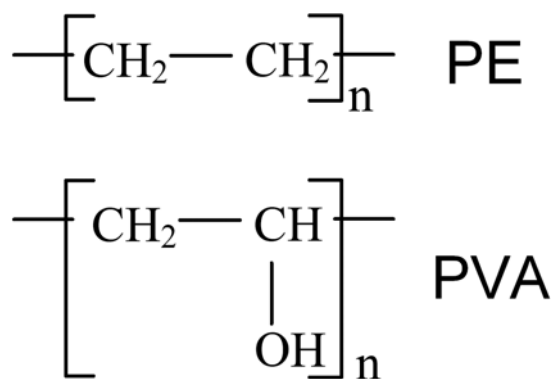


Figura 24: Unidade de repetição do Polietileno (PE) e do Álcool polivinílico (PVA).

Ao contrário do polietileno e da maioria dos polímeros vinílicos, o PVA não é preparado pela polimerização do correspondente monómero. O monómero “álcool vinílico” existe quase exclusivamente sob a forma acetaldeído mas tentativas de produzir PVA através da condensação polialdólica do acetaldeído tiveram muito pouco sucesso até hoje.^[54]

Industrialmente, o PVA é preparado através da hidrólise total ou parcial do acetato polivinílico (PVAc) (Figura 25) para remover os seus grupos acetato. O

processo industrial geralmente utilizado para a produção de acetato polivinílico é a polimerização dos monómeros “acetaldeído” em metanol.

Posteriormente procede-se à sua desacetilação para obter o álcool polivinílico. Este processo é efectuado em solução, suspensão ou emulsão em meio alcalino, geralmente por esterificação em metanol na presença de quantidades catalíticas de metóxido de sódio, com a formação de PVA e acetato de metilo (Figura 26).

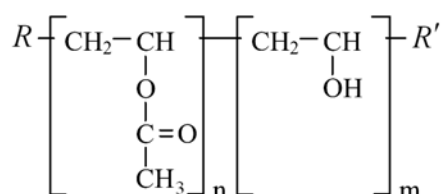


Figura 25: Estrutura molecular do acetato polivinílico.

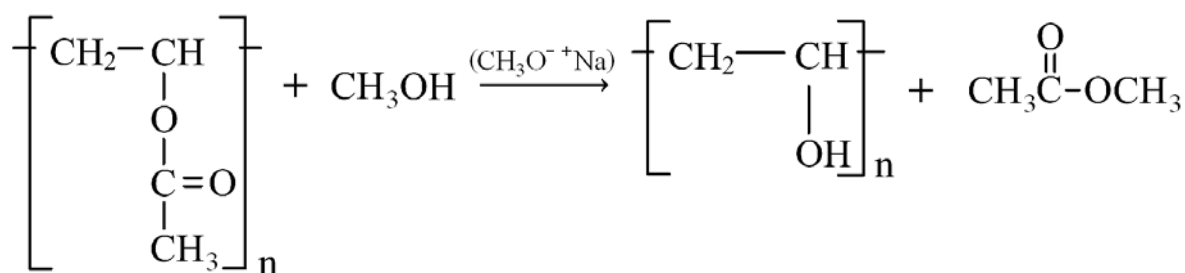


Figura 26: Formação do PVA através da desacetilação do PVAc.

O PVA contém principalmente unidades 1,3-diol. A quantidade de unidades 1,2-diol em PVAs obtidos por desacetilação de PVAcS nunca chega a ultrapassar os 2%. Normalmente é comercializado sob a forma de pó ou grânulos de cor branca ou ligeiramente amarelada. Os principais factores que influenciam as suas propriedades físicas são o seu grau de polimerização (ou massa molecular) e o seu grau de hidrólise (entenda-se desacetilação). Os produtos geralmente comercializados inserem-se em dois grupos distintos: aqueles com graus de hidrólise de 87-89% e os hidrolisados em cerca de 98%. Ambos incluem produtos com graus de polimerização (DPs) entre 400 e 3700 que se traduz em massas moleculares entre 18 kDa e 165 kDa.

O seu grau de dissolução na água diminui em função do aumento do seu DP e do seu grau de hidrólise. Normalmente para a sua dissolução total são necessárias temperaturas na ordem dos 90 °C, embora PVAs com graus de

hidrólise inferiores a 88% dissolvam melhor a baixas temperaturas. A viscosidade deste polímero em solução é naturalmente dependente do seu DP, do seu grau de hidrólise, da concentração e da temperatura assim como a maioria dos polímeros.

Recorrendo à bibliografia verificaram-se já algumas experiências de produção de fibras de álcool polivinílico (com^[55,56,53] e sem^[57,52,58] quitosano incorporado). Em 2007, TAO et SHIVKUMAR^[52] referenciou a produção de matrizes fibrosas de PVA (Mw 18 000 g/mol) cujos resultados são apresentados na Figura 27.

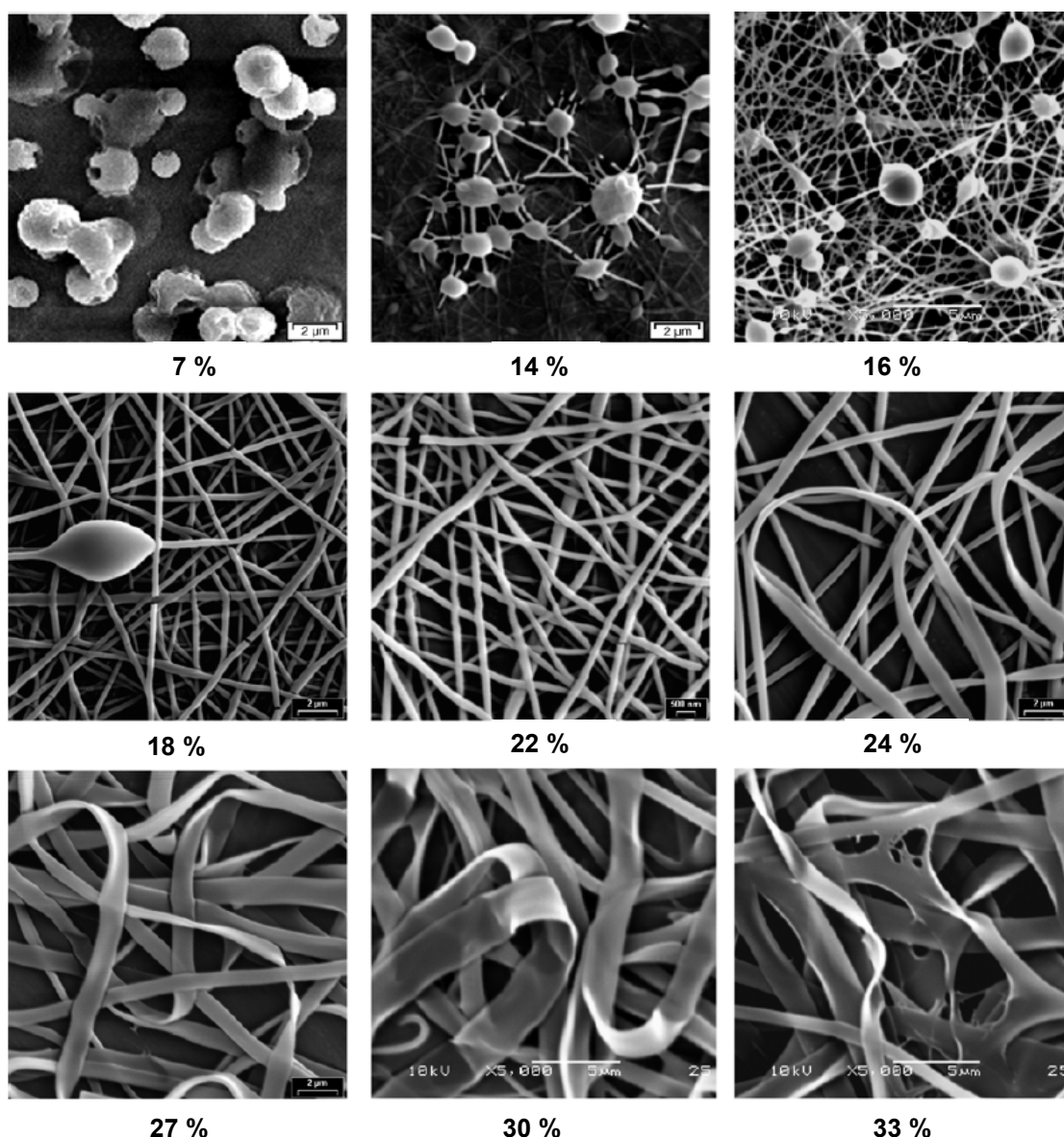


Figura 27: Imagens ao SEM de fibras de PVA (Mw = 18 000 g/mol) em água destilada produzidas por electrospinning a diferentes concentrações (m/v)%.^[52]

Pode verificar-se claramente o desaparecimento dos grânulos presentes nas fibras com o aumento da concentração de PVA assim como o aumento do diâmetro das fibras.^[52]

EM 2006, LIN et al^[53] também referenciou a produção de matrizes fibrosas de PVA (Mw 146 000 – 186 000, 98-99% hidrolisado) e quitosano (baixo peso molecular, 75-85% desacetilado) cujos resultados são apresentados na Figura 28.

Pode também verificar-se claramente o desaparecimento dos grânulos presentes nas fibras com o aumento da concentração de PVA. Juntamente com este facto verifica-se também a optimização e uniformização das fibras com a adição de quitosano. Apesar dos grânulos nas fibras de PVA desaparecerem só a partir de um valor de concentração de 7% (m/v) a presença de quitosano faz esses grânulos desaparecer logo com apenas 5% (m/v) de PVA em solução.

TAO et SHIVKUMAR^[52] também referenciaram o estudo do comportamento de várias concentrações de PVA combinadas com várias massas moleculares apresentando o resultado sob a forma de linhas delimitadoras de comportamento Figura 29.

Baseando-nos no respectivo gráfico podemos fazer uma previsão aproximada da concentração de PVA (Mw = 72 kDa) a utilizar para produzir uma matriz fibrosa de suporte para a incorporação de quitosano. Com uma concentração de aproximadamente 8% (m/v) teremos fibras com a presença de grânulos que podem ser optimizadas e uniformizadas com a inclusão de quitosano em solução.

Será necessário produzir fibras de PVA e PVA+quitosano a várias concentrações, como está representado na Figura 28, para conseguir determinar, em primeiro lugar, a concentração de PVA apropriada a utilizar, isto considerando que, segundo os dados da Figura 29, esta se deve encontrar à volta dos 8% (m/v).

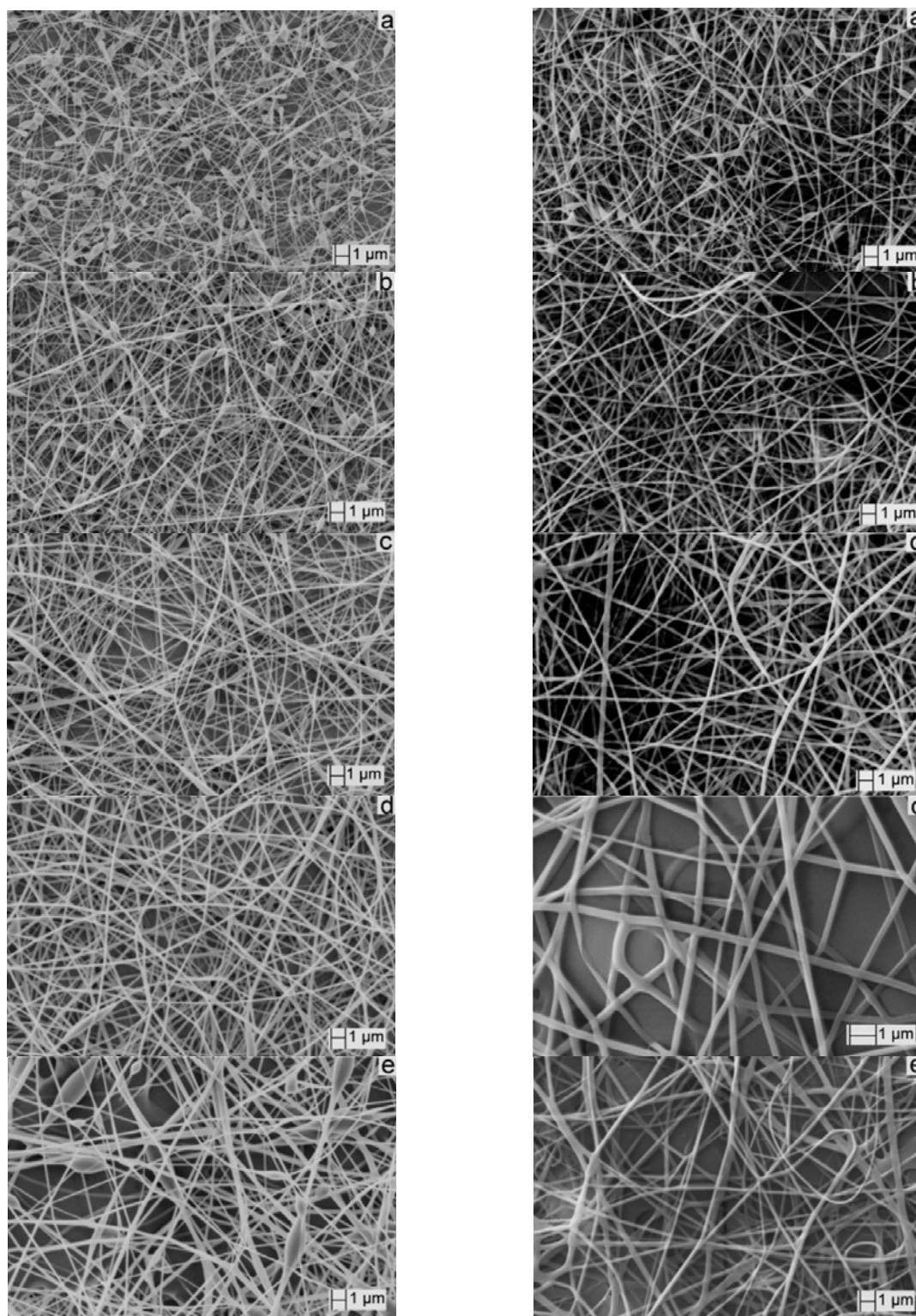


Figura 28: Imagens ao SEM de fibras de PVA em ácido acético 2% obtidas por electrospinning; concentração de PVA (a) 4% (m/v), (b) 5% (m/v), (c) 6% (m/v), (d) 7% (m/v), (e) 8% (m/v) sem (esquerda) e com a presença de 1% (m/v) de quitosano (direita) em solução.^[53]

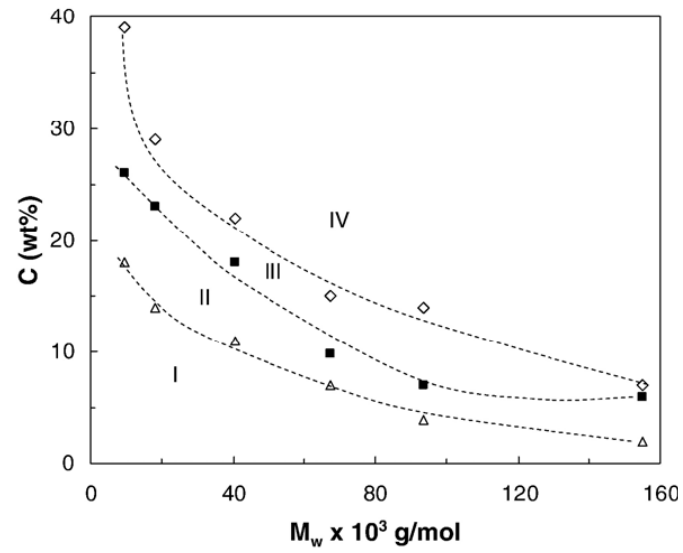


Figura 29: Várias morfologias observadas para o PVA submetido ao electrospinning. I: grânulos, II: fibras com grânulos, III: fibras regulares, IV: fibras largas e achatadas.^[52]

3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras

Sulfato de dextrano (Sintetizado através da bactéria *Leuconostoc mesenteroides*, Mw=100kDa) da Fluka (Sigma-Aldrich);

Quitosano (Middle Viscous GD \approx 0,8) da Fluka (Sigma-Aldrich);

Álcool polivinílico (Mw=72kDa) 97,5-99,5 mol% hidrolisado da Fluka (Chemie AG, CH-9470 Buchs)

3.2 Solubilização

Numa primeira fase foram executadas várias tentativas de formulação de fibras com os dois polímeros electrólitos: o quitosano e o sulfato de dextrano.

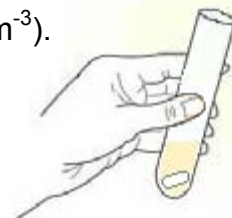
Por possuírem grupos funcionais distintos em termos de carga eléctrica, estes polímeros tornam-se muito difíceis de solubilizar simultaneamente. A primeira parte deste trabalho centrou-se na tentativa de solubilização destes dois polímeros simultaneamente recorrendo à manipulação do pH das soluções.

Prepararam-se duas soluções, uma de cada polímero. A solução A consistiu em dissolver 0,05 g de quitosano em 5,0 mL de ácido acético ($0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$) durante 1h para a obtenção de uma concentração de 1% (m/v). A solução B consistiu em dissolver 7,5 g de sulfato de dextrano em 5,0 mL de água destilada durante 1h para a obtenção de uma concentração de 150% (m/v). A solução A apresenta uma concentração de 1% (m/v) uma vez que é um valor que não concede à solução uma viscosidade muito elevada e permite a sua fácil manipulação. A solução B apresenta uma concentração de 150% (m/v) uma vez que foram realizados testes preliminares à possibilidade de produção de fibras de SD por electrospinning e esta aparenta ser uma concentração à qual já se forma uma matriz polimérica no colector.

Prepararam-se nove tubos de ensaio, cada um com 1,0 mL de soluções diluídas de ácido clorídrico, com valores de pH entre 2 e 6. O pH foi medido com eléctrodo de vidro H^+ recorrendo ao medidor de pH InoLab level 3 WTW. Estes valores de pH foram seleccionados para prevenir a precipitação do quitosano, pois este só é solúvel em meio ácido.

Solução A: Quitosano a 1% (m/v) em CH_3COOH ($0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$).

Solução B: Sulfato de dextrano a 150% (m/v) em água.



Seguidamente adicionou-se a cada um dos nove tubos de ensaio 0,5mL de cada uma das soluções A e B (Tabela 3), procedeu-se à sua agitação e

determinou-se o tempo que a solução demorou a apresentar os primeiros sinais de reacção a olho nu.

O resultado a observar seria qualquer tipo de alteração na homogeneidade da solução como precipitados, presença de partículas em suspensão, coloração ou algum tipo de reacção de complexação entre os polímeros em solução.

Tabela 3: Composição das nove amostras analisadas.

Tubo nº	V_{HCl (aq)} / mL	pH	V Solução A / mL	V Solução B / mL	V_{final} / mL
I	1,0	2,0	0,5	0,5	2,0
II	1,0	2,5	0,5	0,5	2,0
III	1,0	3,0	0,5	0,5	2,0
IV	1,0	3,5	0,5	0,5	2,0
V	1,0	4,0	0,5	0,5	2,0
VI	1,0	4,5	0,5	0,5	2,0
VII	1,0	5,0	0,5	0,5	2,0
VIII	1,0	5,5	0,5	0,5	2,0
IX	1,0	6,0	0,5	0,5	2,0

3.3 Electrospinning

3.3.1 Sistema utilizado

O sistema de electrospinning utilizado neste trabalho é composto por:

- Tambor cilíndrico metálico rotativo com um motor controlador de rotações;
- Bomba de fluxo contínuo HARVARD apparatus PHD2000 infusion;
- Gerador de diferença de potencial SPELLMAN CZE1000R com capacidade até 30kV.

Conforme já foi descrito previamente, o processo de electrospinning consiste basicamente na aplicação de um campo eléctrico de grande voltagem entre a solução/fluido do(s) polímero(s) e o colector. No entanto todas as outras variáveis ambientais circundantes promovem alterações comportamentais que têm que ser consideradas. Um dos efeitos indesejados observados durante o processo de electrospinning foi o facto de todo o suporte colector (cilindro, suporte e motor rotativo) ser metálico e dispersar as linhas de campo eléctrico (Figura 30).

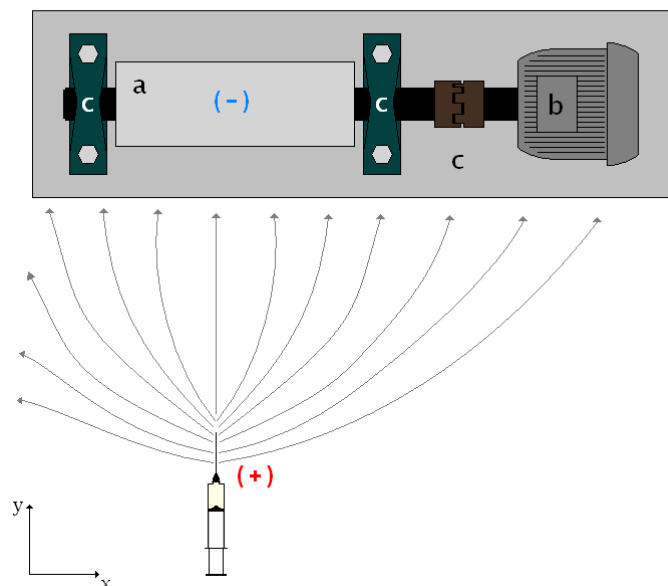


Figura 30: Linhas de campo dispersas por todo o suporte (c) relativo ao colector cilíndrico (a) e motor rotativo (b).

A solução encontrada foi utilizar uma barra metálica de cobre ligada ao pólo negativo para que as linhas de campo passem a convergir para uma zona mais restrita e tenham ao mesmo tempo que passar pelo cilindro (Figura 31). Deste modo o colector deixa de estar ligado ao pólo negativo ficando apenas situado no caminho das linhas de campo e promovendo um maior aproveitamento das fibras formadas.

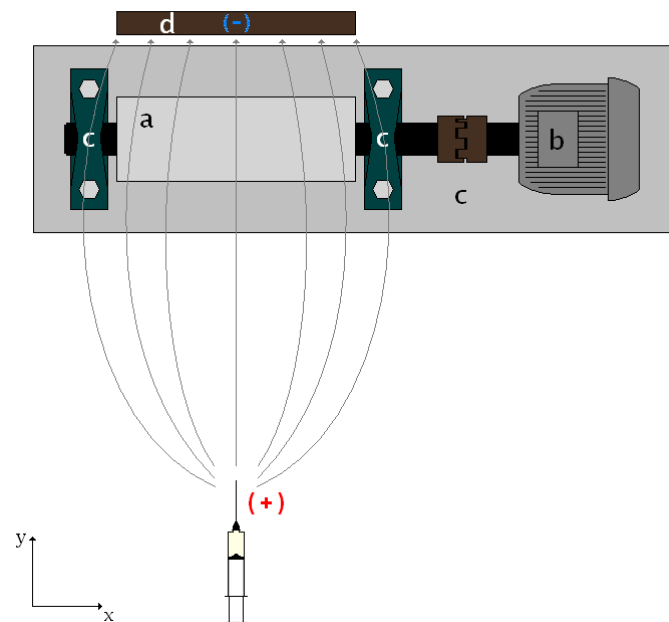


Figura 31: Linhas de campo a convergirem para a barra metálica de cobre (d) passando pelo colector cilíndrico (a).

A produção de matrizes fibrosas por electrospinning, ao contrário do que foi referenciado na introdução, não é tão simples e linear como aparece descrito, principalmente quando estamos a falar de polímeros que não solubilizam simultaneamente em solução.

Apesar de já existirem ideias prévias acerca das condições a operar, tanto na bibliografia como através da sensibilidade e experiência de quem trabalha directamente nesta técnica, o resultado final é sempre influenciado por pequenas alterações nas variáveis inerentes ao processo. Sendo assim, a optimização das características finais das fibras passa por adoptar uma postura de “tentativa erro” até encontrar as condições ideais a operar.

O primeiro problema encontrado foi a incapacidade de dissolver o quitosano e o sulfato de dextrano na mesma solução. Sendo assim, utilizaram-se duas seringas com cada um dos polímeros dissolvidos isoladamente.

Todos os ensaios referidos nesta tese foram realizados nas seguintes condições: as seringas foram colocadas a 8 cm de distância entre elas para prevenir a deposição das fibras de um polímero na agulha vizinha; a diferença de potencial aplicada foi de 25 kV e uma intensidade de corrente máxima de 15 μ A; o cilindro colector funcionou a 720 rpm e ficou situado entre a seringa inferior (a 15 cm) e a barra metálica de cobre (a 5 cm). O fluxo da solução foi variado dependendo da solução do polímero a processar, atendendo às condições consideradas mais adequadas para cada caso específico.

Toda a montagem foi efectuada visando a intersecção das linhas de campo eléctrico pelo colector (Figura 32). Foram tiradas fotos de vários ângulos da montagem experimental feita no laboratório e identificados todos os elementos constituintes (Figura 33 e Figura 34).

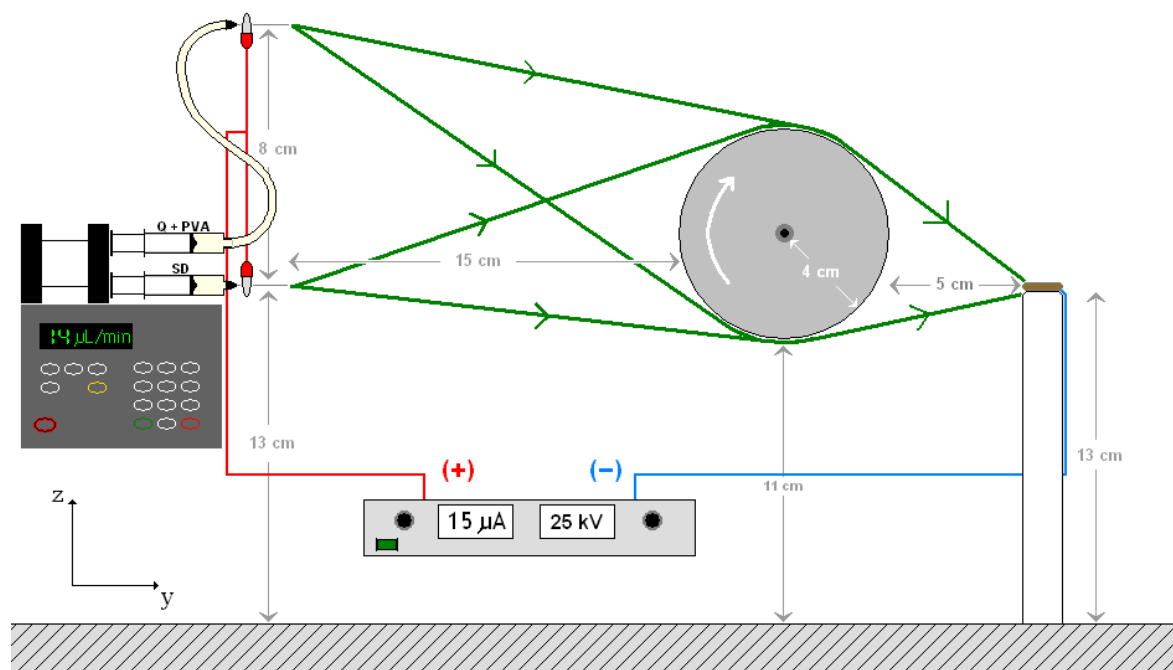


Figura 32: Esquema da montagem experimental com o colector (**círculo**), a bomba de fluxo contínuo (**esquerda**), o gerador de diferença de potencial (**meio**), a barra metálica de cobre (**direita**), todas as distâncias utilizadas e as linhas de campo eléctrico (**verde**).

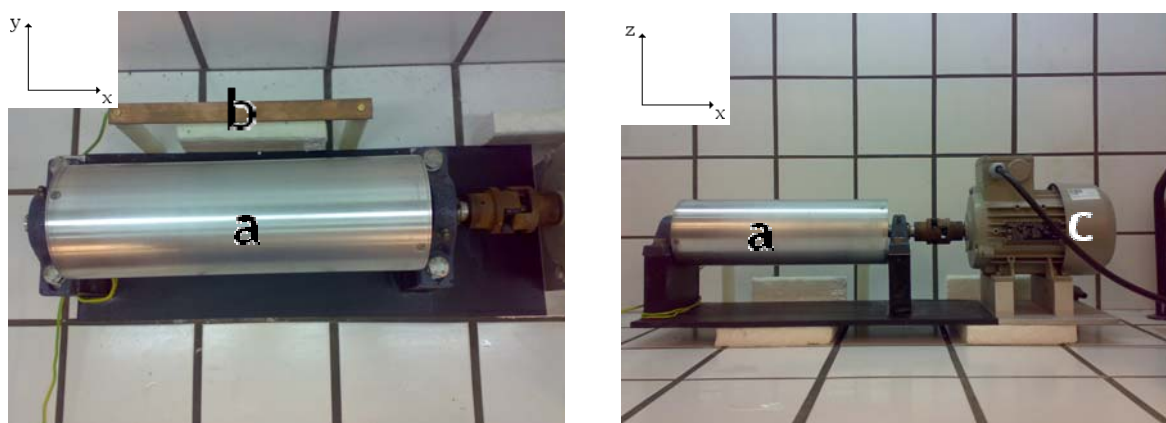


Figura 33: Fotos da montagem experimental. Colector cilíndrico (a) visto de cima (esquerda) e de frente (direita), barra metálica de cobre (b) e motor que imprime rotação ao colector (c).

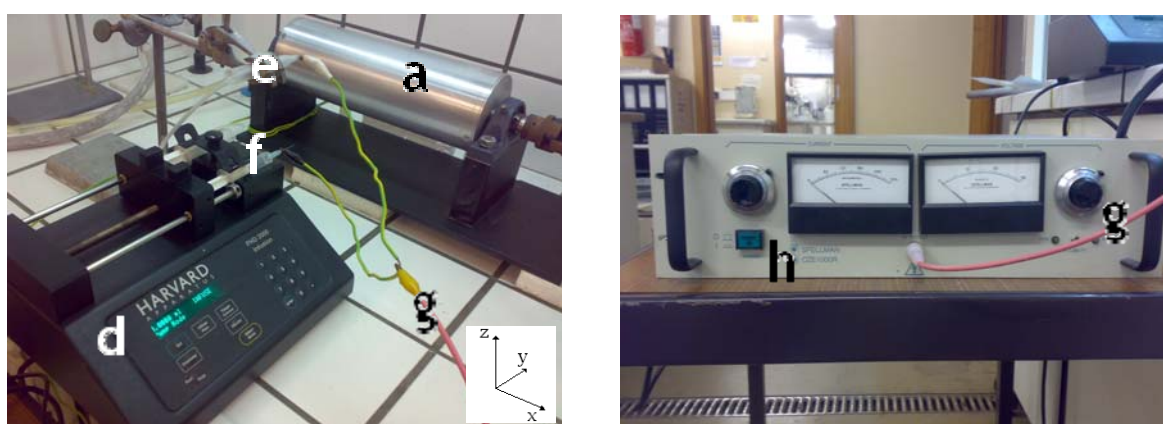


Figura 34: Fotos da montagem experimental vista de perfil (esquerda) onde se pode ver o colector (a), a bomba (d) que imprime um fluxo contínuo nas seringas (e,f) e o fio que liga ao pólo positivo (g) e o gerador de diferença de potencial (h) (direita).

3.3.2 Polímeros e soluções utilizadas

3.3.2.1 Álcool polivinílico

Para a produção da matriz de álcool polivinílico prepararam-se 25 mL de uma solução de PVA de concentração pretendida (6-10% (m/v)) em ácido acético 2% (v/v) dissolvendo o polímero com recurso a agitação por barra magnética num erlenmeyer submetido a um banho a 80 °C durante 4 horas. No fim desse tempo a solução foi transferida para uma seringa de 24 mm de diâmetro interno e deixada

a repousar durante a noite na vertical com a agulha virada para cima. Este processo faz com que se libertem as bolhas de ar presentes em solução.

No dia seguinte é empurrado o êmbolo da seringa para expulsar as bolhas de ar presentes à superfície e é colocado um tubo de silicone com uma agulha metálica conforme esquematizado na Figura 35 e é iniciado o processo de electrospinning, com um fluxo de solução de 25 $\mu\text{L}/\text{min}$.

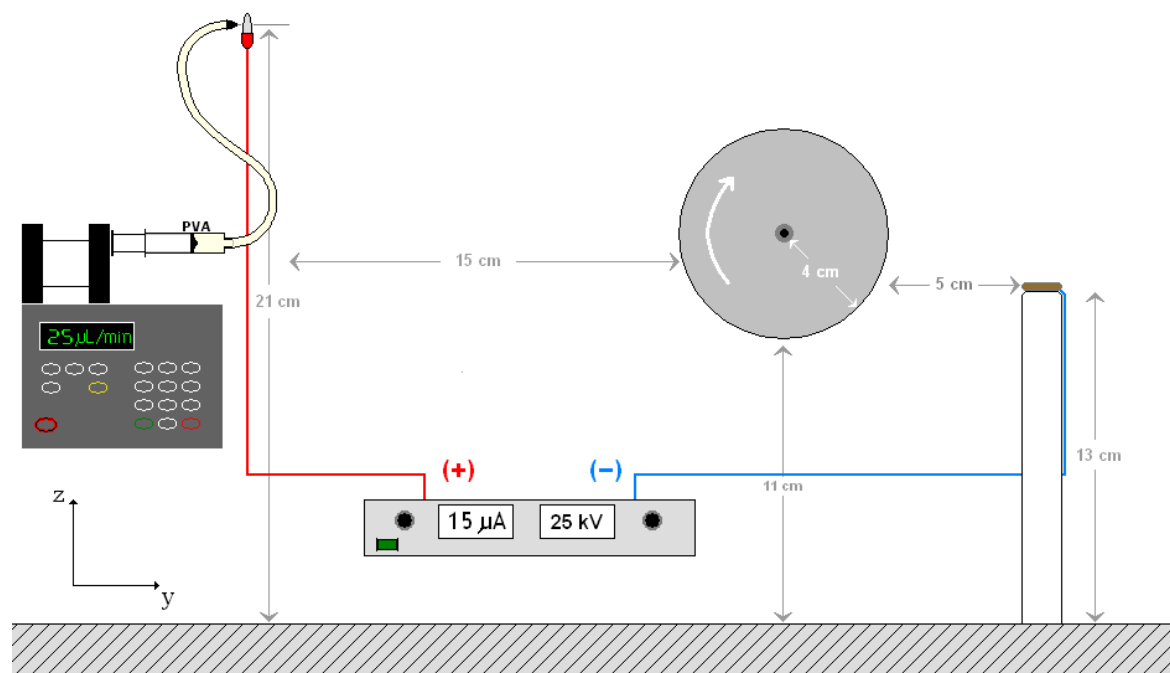


Figura 35: Esquema da montagem experimental efectuada para produzir a matriz fibrosa de PVA.

Para amostras a serem analisadas por SEM, a matriz de fibras foi recolhida em lamela fixa no colector rotativo, durante 15 min. Para o estudo das propriedades mecânicas e ângulos de contacto preparam-se matrizes de maiores dimensões, a uma concentração de 9% (m/v). Neste caso, o processo terminou quando foram utilizados 20 mL da solução (aproximadamente 13 horas e meia).

3.3.2.2 Álcool polivinílico + quitosano

Para a produção da matriz de álcool polivinílico + quitosano preparou-se uma solução de PVA de concentração pretendida (12-20% (m/v) em ácido acético

2% (v/v), de acordo com o procedimento anteriormente referido (secção 3.3.2.1), e uma solução de quitosano 1% (m/v) também em ácido acético 2% (v/v).

Depois de uma hora a homogeneizar as soluções deixam-se repousar durante uma hora para eliminar a presença de algumas bolhas de ar em suspensão. No caso da formação de bolhas de maiores dimensões, aplicou-se vácuo até à sua eliminação. Estas bolhas de ar funcionam como descontinuidades na solução promovendo a sua heterogeneidade e condicionando o percurso da corrente eléctrica que atravessa a solução que muitas vezes resulta numa sobrecarga. Essa sobrecarga não permite a aplicação de uma diferença de potencial muito elevada e impede que todo o processo de ES seja viável.

As amostras a serem analisadas por SEM encontram-se identificadas na Tabela 4. A preparação da amostra para electrospinning e as condições usadas para este processo foram semelhantes às anteriormente descritas (secção 3.3.2.1). As matrizes obtidas a partir destas soluções foram recolhidas em lamela fixa no colector rotativo, durante 15 min, com um fluxo de solução de 14 $\mu\text{L}/\text{min}$. O fluxo foi ajustado para que ocorra uma saída regular de polímero sob a forma de fibras da gota de solução na ponta da agulha. A velocidade de saída das fibras deverá ser a mais aproximada possível da velocidade de chegada de solução à ponta da agulha para que haja um jacto regular sem interrupções e sem acumulação de excesso de solução na ponta da seringa.

Tabela 4: Composição das 10 amostras a analisar.

Amostra	Soluções de PVA					Solução de quitosano V (Q 1%) / mL	Ácido acético V / mL	Concentrações finais	
	V (PVA 12%) / mL	V (PVA 14%) / mL	V (PVA 16%) / mL	V (PVA 18%) / mL	V (PVA 20%) / mL			[PVA] (g/100mL)	[Q] (g/100mL)
A	2,0	-	-	-	-	-	2,0	6,0	-
B	-	2,0	-	-	-	-	2,0	7,0	-
C	-	-	2,0	-	-	-	2,0	8,0	-
D	-	-	-	2,0	-	-	2,0	9,0	-
E	-	-	-	-	2,0	-	2,0	10,0	-
A+Q	2,0	-	-	-	-	2,0	-	6,0	0,5
B+Q	-	2,0	-	-	-	2,0	-	7,0	0,5
C+Q	-	-	2,0	-	-	2,0	-	8,0	0,5
D+Q	-	-	-	2,0	-	2,0	-	9,0	0,5
E+Q	-	-	-	-	2,0	2,0	-	10,0	0,5

Para o estudo das propriedades mecânicas e ângulos de contacto prepararam-se matrizes de maiores dimensões, a uma concentração de 9% (m/v) de PVA e 0,5% de quitosano. Neste caso, o processo terminou quando foram utilizados 20 mL da solução (aproximadamente 24 horas).

3.3.2.3 Sulfato de dextrano

A produção de fibras de sulfato de dextrano começou a ser analisada a partir de uma concentração de 150 % (m/v) em água pois é a concentração a partir da qual se observa a olho nu a formação de uma matriz no colector.

Para além desta concentração, foram produzidas várias amostras, com concentrações entre 150 % (SD150) e 200 % (SD200) em água com o intuito de se visualizar ao SEM o aspecto da matriz formada e perceber qual a concentração a partir da qual já temos fibras bem definidas sem a presença de grânulos (Tabela 5). As soluções foram obtidas por agitação à temperatura ambiente durante 4 horas. Após um período de repouso de 1h para libertar algumas bolhas de ar em suspensão (quando necessário as bolhas de maiores dimensões foram removidas recorrendo a vácuo), cada uma das soluções foi transferida para uma seringa (12 mm de diâmetro interior) com uma agulha metálica e deixada na vertical (a agulha virada para cima) a repousar durante a noite. O processo de electrospinning decorreu com um fluxo de solução de 6,25 $\mu\text{L}/\text{min}$. O diâmetro da seringa foi seleccionado para se conseguir este fluxo, utilizando simultaneamente duas seringas, para se conseguirem fibras de boa qualidade para este polímero.

Tabela 5: Constituição das amostras de sulfato de dextrano analisadas ao SEM.

Amostra	massa (g)	V água (mL)	[SD] (%(m/v))
SD 150	3,00	2,00	150
SD 160	3,20	2,00	160
SD 170	3,40	2,00	170
SD 180	3,60	2,00	180
SD 190	3,80	2,00	190
SD 200	4,00	2,00	200

As matrizes de sulfato de dextrano não foram produzidas para se estudarem individualmente, já que são muito hidrofílicas e apresentam elevada fragilidade. O principal objectivo foi definir condições adequadas de electrospinning para o SD, tendo em vista a sua combinação com outros polímeros.

3.3.2.4 Álcool polivinílico + sulfato de dextrano

A matriz fibrosa constituída por estes dois polímeros foi preparada executando o processo de electrospinning com os dois polímeros em diferentes seringas (Figura 36), utilizando uma solução de PVA a 9% (m/v) e de sulfato de dextrano a 170% (m/v). Estas soluções foram preparadas como anteriormente descrito.

Para a produção de matrizes de maiores dimensões, nomeadamente para a realização dos ensaios mecânicos e análise da superfície, o processo foi terminado quando foram utilizados 20 mL da solução de PVA e consequentemente 5 mL da solução de SD (aproximadamente 13 horas e meia).

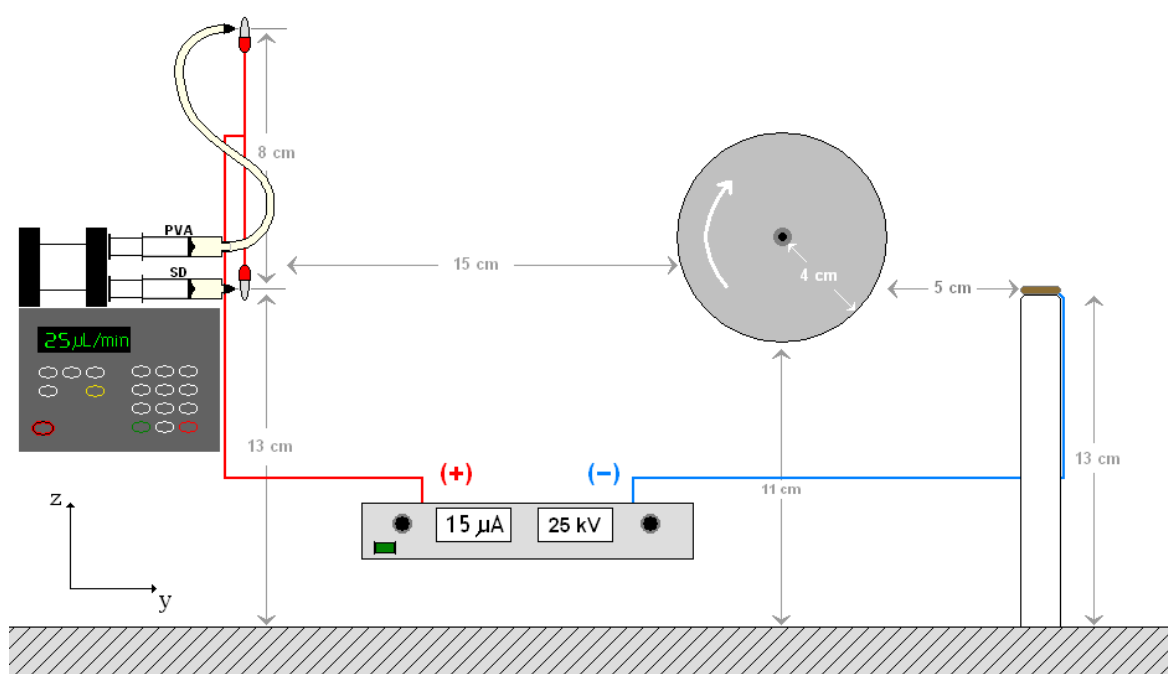


Figura 36: Esquema da montagem experimental efectuada para produzir a matriz fibrosa de PVA + sulfato de dextrano.

3.3.2.5 Álcool polivinílico + quitosano + sulfato de dextrano

Para a produção da matriz de álcool polivinílico + quitosano + sulfato de dextrano prepararam-se soluções individuais de cada um dos polímeros, de acordo com o procedimento já descrito. As soluções de PVA e de quitosano foram misturadas, de modo a se conseguirem concentrações finais na mistura de 9% (m/v) e de 0,5% (m/v) para o PVA e para o quitosano, respectivamente, em ácido acético 2% (v/v). A concentração da solução de SD em água foi de 170 % (m/v).

O processo de ES seguido ilustra-se na Figura 37. Ambas as seringas foram colocadas na bomba de fluxo contínuo (14 $\mu\text{L}/\text{min}$ para a solução de PVA + quitosano e 6,22 $\mu\text{L}/\text{min}$ para a solução de SD).

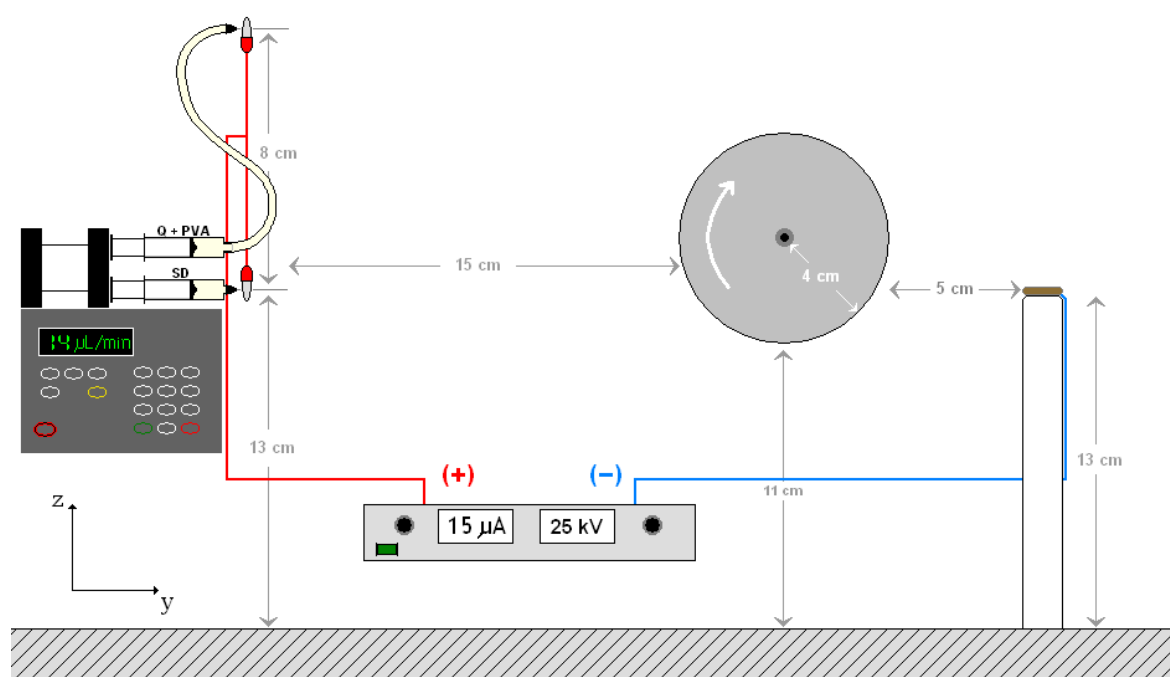


Figura 37: Esquema da montagem experimental efectuada para produzir a matriz fibrosa de PVA + quitosano + sulfato de dextrano.

No caso da produção de matrizes de maiores dimensões, o processo foi terminado quando se utilizaram 20 mL da solução de PVA + quitosano e consequentemente 9 mL da solução de SD (aproximadamente 24 horas).

3.4 Análise ao SEM

As amostras a analisar, as quais consistiam nas fibras depositadas em lamela de vidro, foram colocadas em suporte metálico de microscopia com fita-cola de carbono de dupla face e submetidas a um revestimento de grafite. Foram analisadas as cinco concentrações de PVA (com e sem quitosano incorporado) descritas na Tabela 4 da página 45 e as seis concentrações de sulfato de dextrano da Tabela 5 da página 46. A observação foi realizada num microscópio electrónico de varrimento (SEM, Hitachi S-4100).

3.5 Propriedades mecânicas das matrizes

Para realizar ensaios com vista a determinar a resistência mecânica das matrizes foram analisadas as características de matrizes de PVA, PVA + quitosano, PVA + sulfato de dextrano e PVA + quitosano + sulfato de dextrano.

As matrizes produzidas foram submetidas a um ambiente de humidade (52 ± 2 %) e temperatura (23 ± 2 °C) controladas (câmara com uma solução aquosa de $\text{Mg}(\text{NO}_3)$ (nitrato de magnésio) saturada) durante 24 horas.

Para caracterização das propriedades mecânicas destas matrizes, realizaram-se ensaios de tensão uniaxial utilizando um texturómetro TA.HDi Texture Analyser da Stable Micro Systems.

As matrizes apresentam alguma heterogeneidade macroscópica principalmente ao nível da sua espessura. A zona que fica mais próxima da agulha aquando a sua produção tende a ficar mais espessa e por isso todas as matrizes produzidas foram avaliadas segundo 2 zonas específicas. As zonas encontram-se discriminadas na Figura 38 em que temos a zona A (laranja) que se localiza na faixa central da matriz e apresenta uma maior espessura e a zona B (amarelo) que se localiza nas faixas contíguas à zona A. Ambas as zonas têm uma largura de 10 mm.

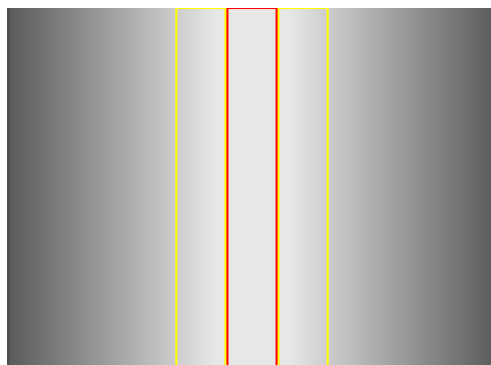


Figura 38: Esquema representativo da variação da espessura de uma matriz fibrosa produzida por electrospinning (**branco**) em que estão discriminadas a zona A (**laranja**) e a zona B (**amarelo**).

Foram analisadas pelo menos 3 amostras de cada zona para cada matriz com as dimensões de 10x90 mm cada, em que 40 mm (20 mm em cada extremidade) correspondem a superfície não exposta (Figura 39) para adesão às garras do texturómetro. As espessuras das matrizes foram medidas utilizando o micrómetro digital Digimatic Micrometer series 293 MDC Lite da Mitutoyo Corporation. Efectuaram-se ensaios de tensão até à ruptura das matrizes baseados no método padrão ASTM D 882-83 com uma taxa de deslocamento de $0,5 \text{ mm.s}^{-1}$. Foram avaliados os valores de rigidez (módulo de Young), força de tensão no ponto de ruptura e alongamento (deformação máxima até ruptura) das matrizes produzidas.

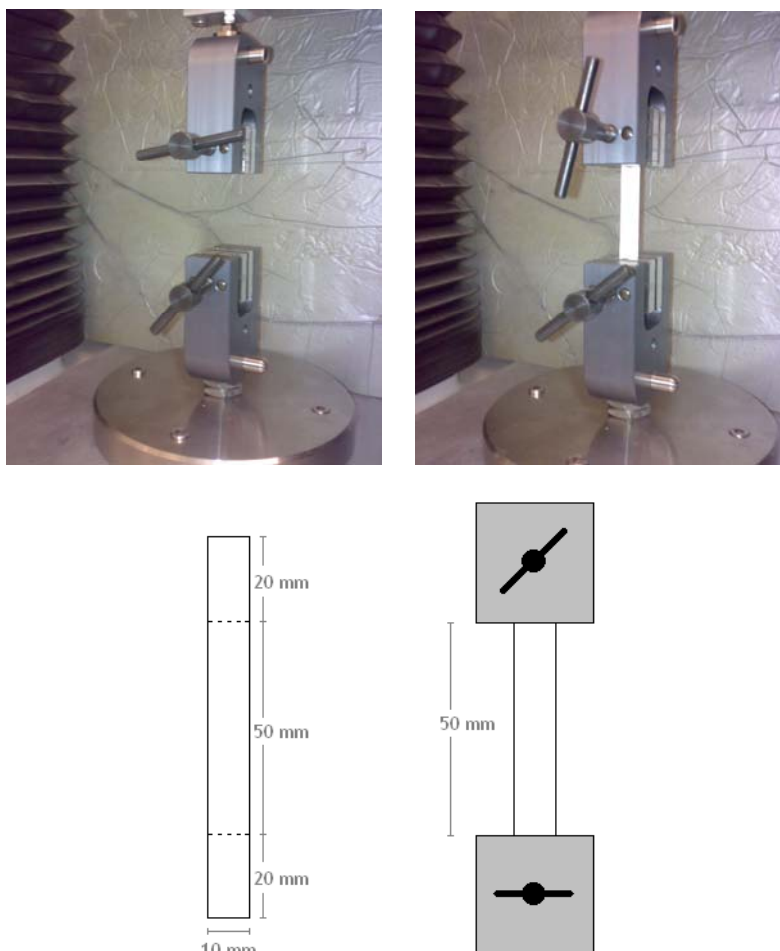


Figura 39: Montagem experimental (**cima**) e esquema representativo (**baixo**) da amostra e das garras do texturómetro.

3.6 Ângulos de contacto

A determinação dos ângulos de contacto de uma superfície é hoje em dia uma das principais análises que avaliam o carácter de afinidade entre dois sistemas (geralmente um líquido e um sólido). No início do século XX, Young estabeleceu que o equilíbrio das forças na extremidade de uma gota de um líquido pode ser descrito pelas energias interfaciais das superfícies em questão. O esquema da Figura 40 traduz essa situação.

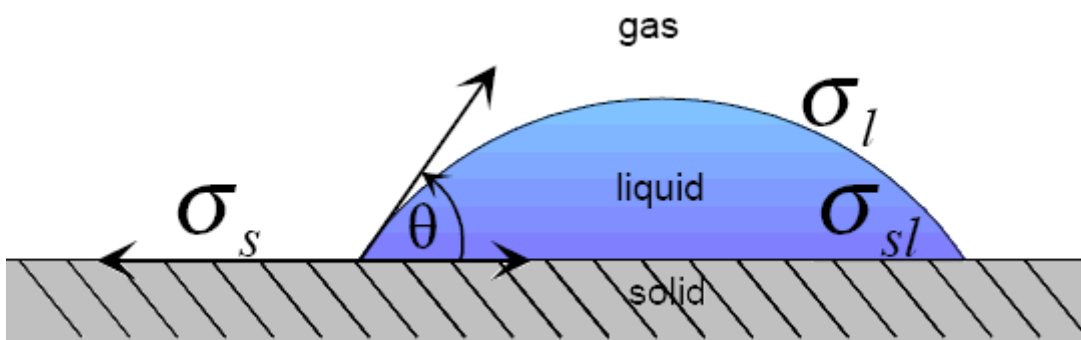


Figura 40: Esquema de uma gota de um líquido depositada sobre uma superfície sólida, ângulo de contacto (θ), energia superficial do sólido (σ_s), do líquido (σ_l) e energia interfacial sólido-líquido (σ_{sl}).

A Equação 2 relaciona as energias interfaciais com o ângulo de contacto.

$$\sigma_s = \sigma_{ls} + \sigma_l \cdot \cos \theta \quad (\text{Equação 2})$$

σ_s é a energia superficial do sólido

σ_l é a energia superficial do líquido

σ_{ls} é a energia interfacial sólido-líquido

θ é o ângulo de contacto

Na maioria dos casos experimentais o valor de σ_s é de menor interesse uma vez que inicialmente o valor de σ_{sl} também é desconhecido. A energia superficial

do sólido é igual à sua tensão superficial devido à sua rigidez e a tensão superficial do líquido é conhecida.

O objectivo desta análise centra-se na determinação dos ângulos de contacto que a água apresenta em relação às matrizes produzidas e avaliar o carácter hidrofílico que as diferentes matrizes apresentam, assim como a sua capacidade de absorver a água.

O procedimento a adoptar centra-se na deposição de 3 μL de água sobre a matriz e analisar o seu ângulo de contacto através do método de ajuste do perfil da gota a uma elipse. O ajuste do perfil da gota a uma circunferência pode ser desajustado para ângulos com valores altos ($> 40^\circ$) uma vez que a própria força gravítica exerce uma tensão vertical que deforma a gota expandindo-a lateralmente (Figura 41).

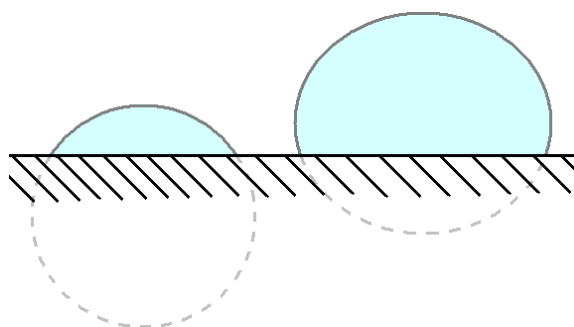


Figura 41: Esquema representativo da deformação que a força gravítica exerce numa gota com um ângulo de contacto de valor elevado (**direita**).

Os erros associados a um ângulo de contacto de baixo valor com um perfil de uma elipse são geralmente menores aos erros de um ângulo de contacto elevado com um perfil de uma circunferência. Essa é a razão pela qual todas as amostras foram analisadas perfilando todas as gotas como uma elipse.

O equipamento utilizado foi um sistema de medição de ângulos de contacto OCA 20 da DataPhysics. Este equipamento permite o acompanhamento do comportamento da gota sobre a matriz ao longo do tempo em função do seu ângulo de contacto e faz também uma aproximação do seu volume. Com estes factores podemos ter uma percepção da capacidade que a matriz tem de espalhar (carácter hidrofílico) e absorver a água depositada.

Infelizmente, e devido à escassez de tempo e ao facto do equipamento ser bastante recente e ainda estar numa fase experimental não foi possível analisar o

comportamento de outros solventes para além da água. O ideal seria utilizar mais dois solventes, um apolar e outro de carácter intermédio, para poder traçar um perfil do carácter hidrofílico/hidrofóbico das matrizes.

3.7 Viscosidade

Para além das propriedades estudadas relativamente às matrizes de fibras, estudaram-se igualmente duas características das soluções poliméricas usadas para a produção destas fibras, a viscosidade e a condutividade, consideradas importantes para a interpretação do comportamento observado durante o processo de electrospinning e para as propriedades finais das fibras obtidas.

A viscosidade é a medida da resistência interna de uma substância ao fluxo quando submetida a uma tensão. Quanto maior a viscosidade de um fluido, mais dificilmente escoará.

Apesar de normalmente ser aplicada a fluidos, líquidos ou sistemas aquosos, a viscosidade também é uma característica de gases e sólidos. Assim como a maioria dos gases, muitos fluidos têm um comportamento linear em função da tensão aplicada e são denominados de fluidos newtonianos em que a água é um bom exemplo disso mesmo. Os fluidos não newtonianos têm um comportamento complexo e não linear. Esse comportamento é descrito pela seguinte lei de Newton:

$$\tau_{yx} = -\mu \frac{\partial u_x}{\partial y}$$

τ_{yx} é a tensão de corte aplicada

$\frac{\partial u_x}{\partial y}$ é a taxa de corte sofrida pelo fluido, ou seja, o gradiente de deformação

μ é a viscosidade

O objectivo desta análise centra-se na determinação da viscosidade das soluções preparadas e perceber se existe uma relação entre a viscosidade e a formação de fibras sem grânulos e bem definidas assim como entre a viscosidade e o aspecto da matriz final.

Prepararam-se soluções com as concentrações utilizadas no capítulo 3.4 para a produção de fibras e mediu-se a sua viscosidade comparando-a com o

aspecto microscópico das matrizes fibrosas. As soluções de PVA, quitosano e PVA+quitosano encontram-se descritas na Tabela 6 enquanto que as soluções de sulfato de dextrano encontram-se na Tabela 7.

Tabela 6: Amostras de PVA, PVA+quitosano e quitosano analisadas.

Amostra	[PVA] (m/v)	[Quitosano] (m/v)
PVA 6	6 %	-
PVA 7	7 %	-
PVA 8	8 %	-
PVA 9	9 %	-
PVA 10	10 %	-
PVA 6 + Q	6 %	0,5 %
PVA 7 + Q	7 %	0,5 %
PVA 8 + Q	8 %	0,5 %
PVA 9 + Q	9 %	0,5 %
PVA 10 + Q	10 %	0,5 %
Q	-	0,5 %

Tabela 7: Amostras de sulfato de dextrano analisadas.

Amostra	[SD] (m/v)
SD 150	150 %
SD 160	160 %
SD 170	170 %
SD 180	180 %
SD 190	190 %
SD 200	200 %

A viscosidade das soluções preparadas (PVA, PVA+quitosano, quitosano e sulfato de dextrano) foi medida utilizando o reómetro Bohlin CVO 120HR, com um sistema de medida de cone e placa (diâmetro 4 cm, ângulo 4°). A gama de tensões aplicadas variou entre amostras devido à diferença de viscosidades, tentando-se obter resultados numa gama de taxas de corte entre 0,01 e 100 s⁻¹

3.8 Condutividade eléctrica

A viscosidade não é a única variável que contribui para a viabilidade deste processo. Outras variáveis como por exemplo a tensão superficial, temperatura e volatilidade do solvente, entre outras, e que infelizmente não puderam ser analisadas, são também bastante importantes para traçar um perfil mais preciso das amostras em função dos resultados. Com o intuito de otimizar esse mesmo perfil foram também realizados ensaios complementares de medição de condutividade eléctrica às soluções poliméricas utilizadas.

A condutividade eléctrica é a capacidade que um material ou solução têm de ser atravessados por uma corrente eléctrica. As suas unidades segundo o Sistema Internacional são siemens/metro.

Infelizmente, e devido ao facto do sulfato de dextrano ser bastante dispendioso, escasso e necessitar de enormes concentrações não foram efectuados ensaios de condutividade eléctrica para este mesmo polímero em solução.

Os ensaios efectuados consistiram em analisar as cinco concentrações de PVA em ácido acético 2%(v/v) analisadas no capítulo 3.4 com e sem a adição de 0,5% (m/v) de quitosano em solução. Conjuntamente com estas análises também foram analisadas as condutividades eléctricas de uma solução de quitosano 0,5% (m/v) em ácido acético 2%(v/v) e do próprio solvente.

A análise foi feita em cinco dias. Foram criados cinco grupos correspondentes a cada uma das cinco soluções de concentrações diferentes de PVA. Em cada dia foram analisadas quatro amostras relativas a um grupo e para cada amostra foram calculadas 6 valores de condutividade eléctrica da solução (Tabela 8).

O equipamento utilizado foi um condutivímetro InoLab level 3 WTW. Foi introduzida sonda na solução e aguardou-se que o aparelho devolvesse o valor. Esse valor é emitido após o aparelho detectar uma estabilização da solução.

Tabela 8: Constituição das 20 amostras para as quais foram analisadas as condutividades eléctricas.

Dia	Grupo	Constituição da amostra	
		Polímeros	Solvente
1	PVA 6	Q (0,5 %)	Ácido acético (2 %)
		PVA (6,0 %)	Ácido acético (2 %)
		Q (0,5 %) + PVA (6,0 %)	Ácido acético (2 %)
		-	Ácido acético (2 %)
2	PVA 7	Q (0,5 %)	Ácido acético (2 %)
		PVA (7,0 %)	Ácido acético (2 %)
		Q (0,5 %) + PVA (7,0 %)	Ácido acético (2 %)
		-	Ácido acético (2 %)
3	PVA 8	Q (0,5 %)	Ácido acético (2 %)
		PVA (8,0 %)	Ácido acético (2 %)
		Q (0,5 %) + PVA (8,0 %)	Ácido acético (2 %)
		-	Ácido acético (2 %)
4	PVA 9	Q (0,5 %)	Ácido acético (2 %)
		PVA (9,0 %)	Ácido acético (2 %)
		Q (0,5 %) + PVA (9,0 %)	Ácido acético (2 %)
		-	Ácido acético (2 %)
5	PVA 10	Q (0,5 %)	Ácido acético (2 %)
		PVA (10,0 %)	Ácido acético (2 %)
		Q (0,5 %) + PVA (10,0 %)	Ácido acético (2 %)
		-	Ácido acético (2 %)

4

RESULTADOS

4.1 Solubilização

Conforme podemos visualizar na Figura 42 e Figura 43 realizou-se a dissolução do sulfato de dextrano e do quitosano em água e ácido acético 0,1 mol.dm⁻³ respectivamente, através de agitação em tubo de ensaio com barra magnética. Amistura das duas soluções revelou a formação de um complexo insolúvel. Depois deste ensaio prévio não ter retornado qualquer resultado satisfatório foi efectuada uma tentativa de dissolução mantendo todas as condições iniciais mas variando o pH.

Conforme pode ser observado na Figura 43, a mistura das duas soluções apresenta-se heterogénea e depois de algum tempo em agitação os dois polímeros acabam por reagir entre si dando origem a um complexo de cor branca. Seguidamente, manipulou-se o pH do meio com o intuito de se atingir uma situação em que ocorresse dissolução dos dois polímeros simultaneamente

(Tabela 9). No entanto, apesar de existirem variações ao longo do tempo, acaba sempre por haver reacção e não há possibilidade de dissolução.

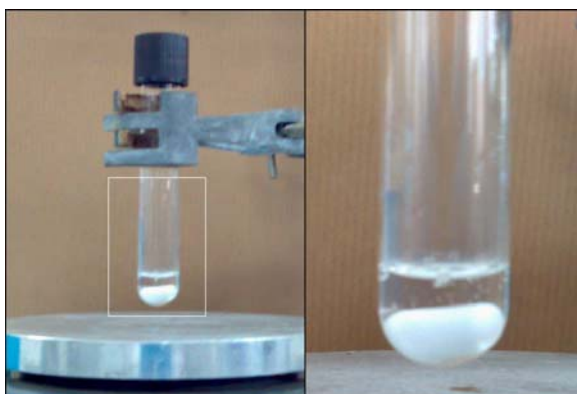


Figura 42: Tubo de ensaio com solução aquosa de sulfato de dextrano e barra magnética de agitação (e respectiva ampliação).

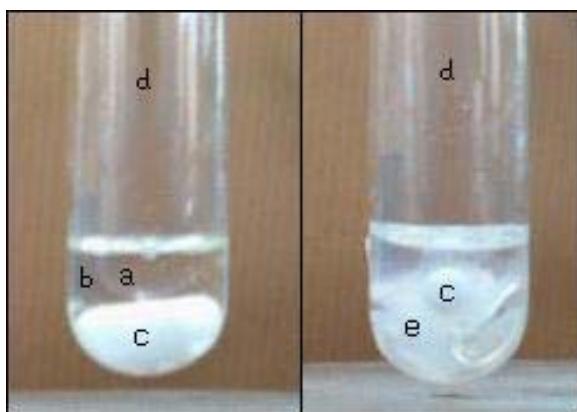


Figura 43: Tubo de ensaio da Figura 42 após adição de uma solução de quitosano em ácido acético $0,1\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ (antes e após agitação respectivamente). **a:** solução de quitosano; **b:** solução de sulfato de dextrano; **c:** barra magnética; **d:** tubo de ensaio; **e:** complexo formado.

Tabela 9: Tempo que a solução demorou a reagir – formação de precipitado/agregados (primeiros vestígios de reacção a olho nu).

Tubo nº	pH	Tempo de reacção / s
I	2,0	58
II	2,5	38
III	3,0	26
IV	3,5	20
V	4,0	16
VI	4,5	13
VII	5,0	11
VIII	5,5	9
IX	6,0	8

Esta análise funcionou como um ponto de partida para a produção de fibras por electrospinning combinando estes dois biopolímeros. O seu carácter polielectrólito antagónico e as suas propriedades específicas podem originar resultados bastante interessantes quando combinados numa matriz polimérica. Uma vez que os polímeros se revelaram incompatíveis em solução partiu-se para a possibilidade de utilizar duas seringas com cada um dos polímeros em solução e proceder-se à produção de fibras por electrospinning dos dois polímeros simultaneamente combinando-os unicamente na matriz final.

Não foram efectuados ensaios a valores de pH superiores a 6,0 uma vez que o quitosano só é solúvel em meio ácido. Com valores de pH superiores poderíamos estar a confundir reacções químicas entre os dois polímeros com uma simples precipitação do quitosano.

4.2 Análise por SEM

A produção de fibras por electrospinning é um processo que, enquanto não se conhecem as condições a operar, se baseia muito num método tentativa-erro observando as alterações que resultam da manipulação das variáveis (neste caso é essencialmente a concentração). Tem que existir uma concentração de polímero suficiente para que haja uma continuidade em solução durante o estiramento. Se a concentração não for suficiente vai haver uma descontinuidade na solução durante o estiramento conduzindo à quebra das fibras e à formação de grânulos. Se essa concentração for mesmo muito baixa não chegam sequer a formar-se fibras mas apenas algumas gotículas.

A nível macroscópico as matrizes são bastante semelhantes, mas para alcançar as condições ideais a operar é necessário observar a morfologia das fibras recorrendo à microscopia.

4.2.1 Fibras de PVA + quitosano

Numa primeira instância foram realizadas várias análises para observar a morfologia das fibras de PVA a cinco concentrações diferentes e a influência da presença de quitosano em solução. Foram retiradas imagens a 3 ampliações para cada amostra: 250x (Figura 44), 1.000x (Figura 45), e 10.000x (Figura 46).

A uma ampliação de 250x já podemos observar uma diferença morfológica das fibras à medida que a concentração de PVA aumenta. Essencialmente observa-se o desaparecimento dos grânulos a partir de 9% (m/v) de PVA. A adição de quitosano também já se faz notar uma vez que na amostra C+Q (8% de PVA + quitosano) já não existem grânulos presentes nas fibras. A presença de grandes manchas circulares mais escuras pode ser observada nas concentrações mais baixas. Além da formação de grânulos nas fibras, conforme já foi referenciado, podem também aparecer pequenas gotas que danificam a matriz, algumas delas até visíveis a olho nu. Isto deve-se a concentrações muito baixas ou a fluxos de saída da seringa muito elevados.

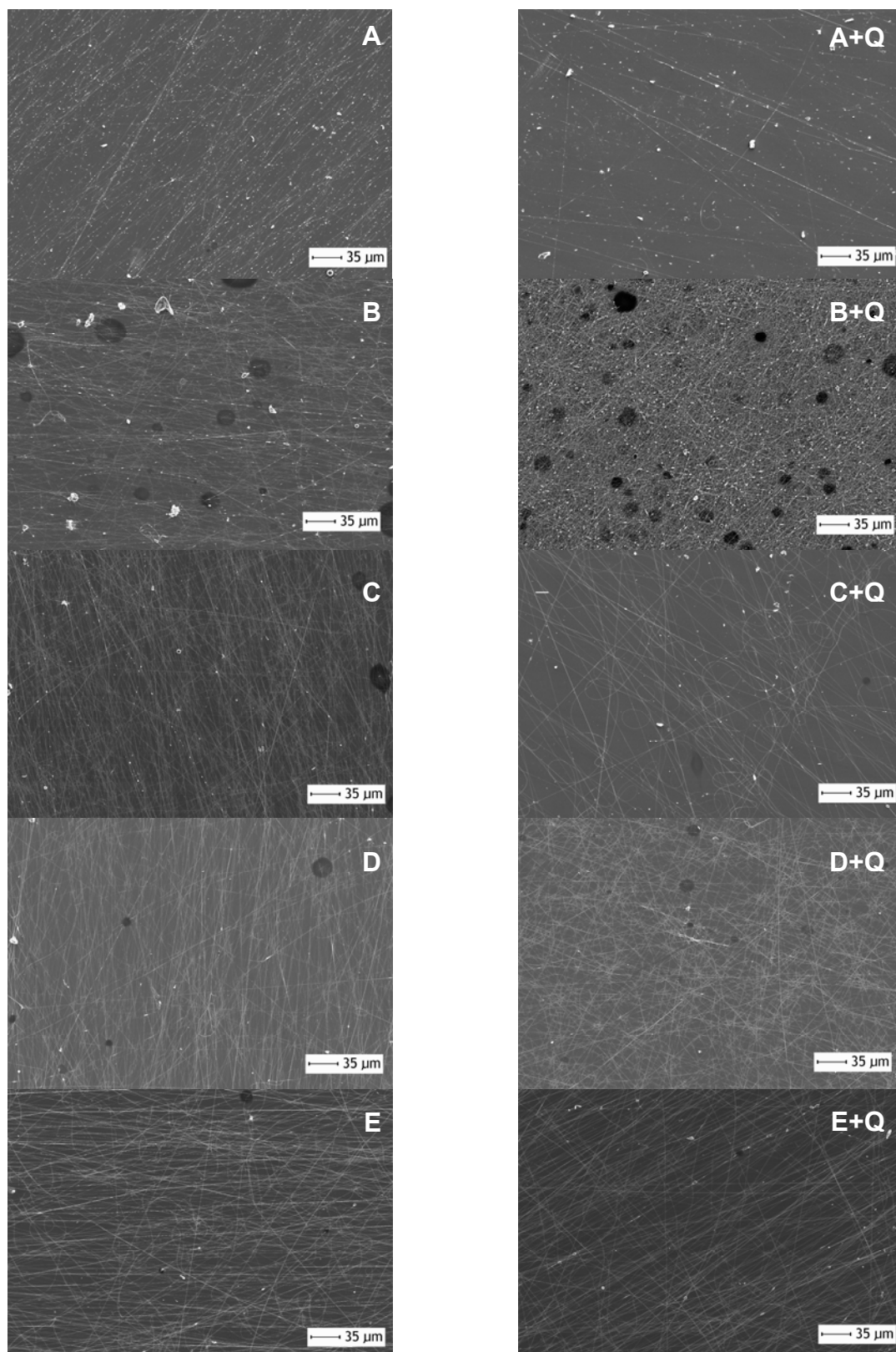


Figura 44: Fibras de PVA e PVA + quitosano 0,5 %(m/v) (+Q) preparadas a partir de soluções em que as concentrações de PVA são de 6 %(m/v) (A), 7 %(m/v) (B), 8 %(m/v) (C), 9 %(m/v) (D) e 10 %(m/v) (E) a uma ampliação de 250x.

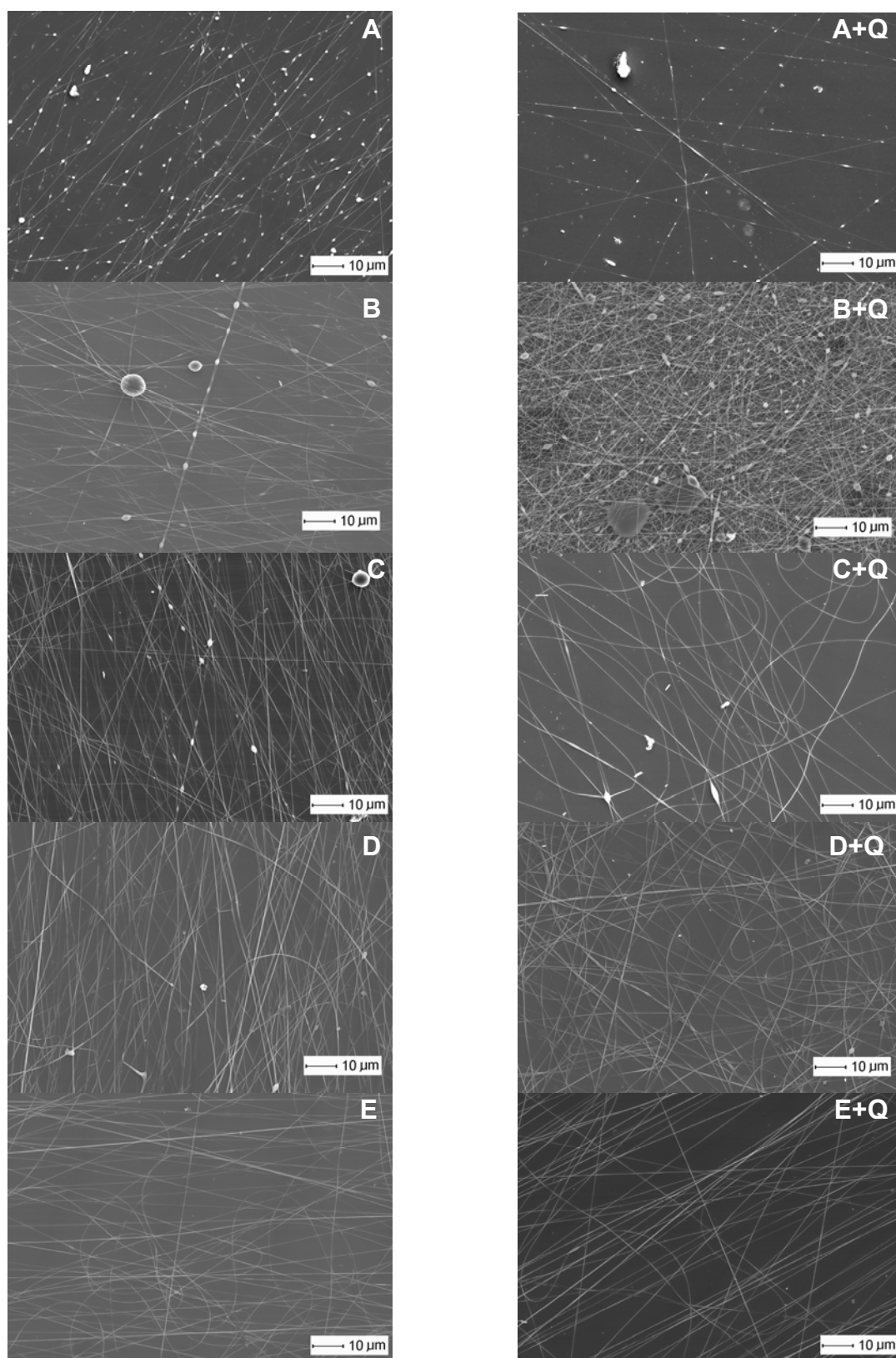


Figura 45: Fibras de PVA e PVA + quitosano 0,5 %(m/v) (+Q) preparadas a partir de soluções em que as concentrações de PVA são de 6 %(m/v) (A), 7 %(m/v) (B), 8 %(m/v) (C), 9 %(m/v) (D) e 10 %(m/v) (E) a uma ampliação de 1.000x.

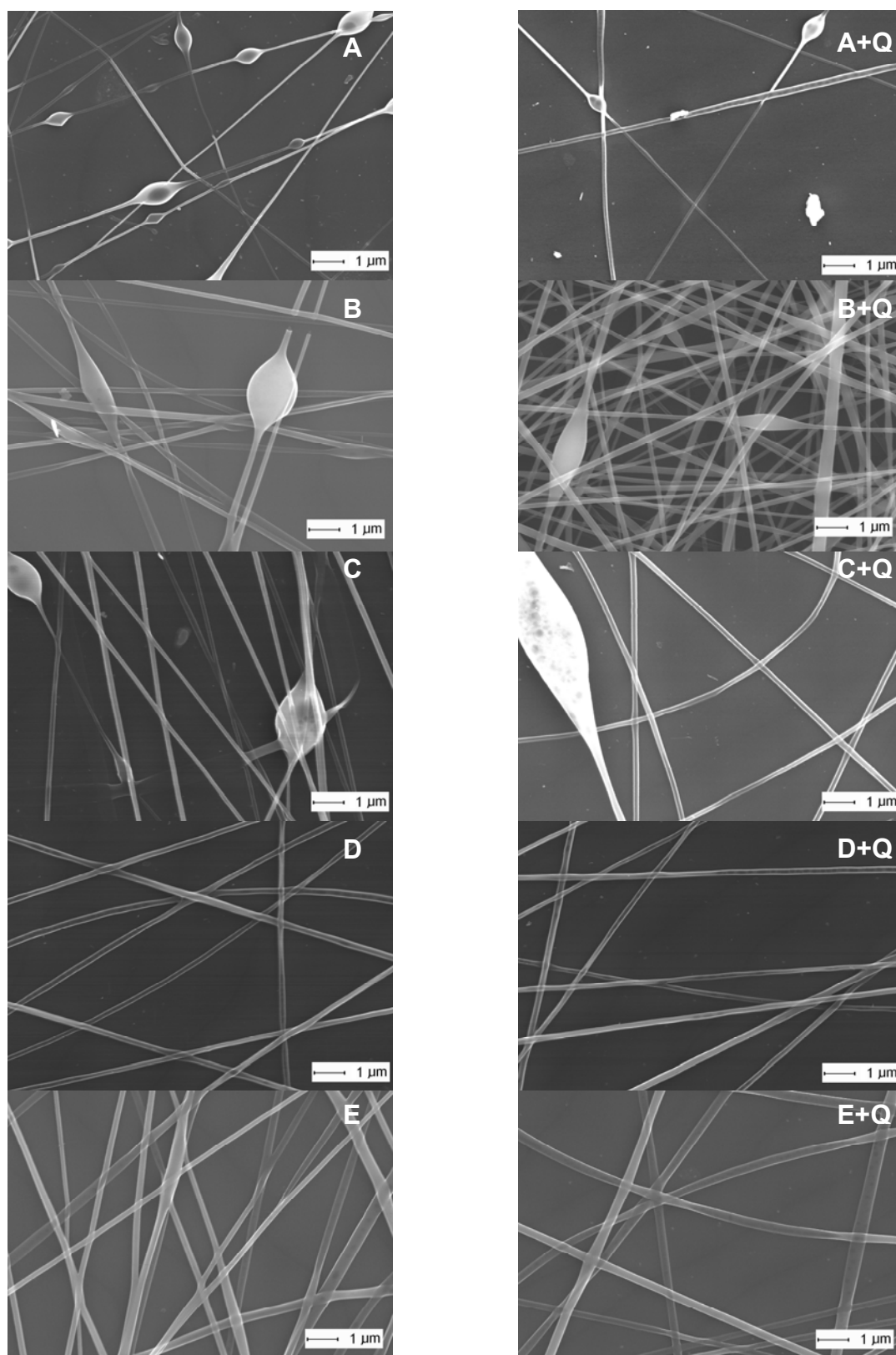


Figura 46: Fibras de PVA e PVA + quitosano 0,5 % (m/v) (+Q) preparadas a partir de soluções em que as concentrações de PVA são de 6 % (m/v) (A), 7 % (m/v) (B), 8 % (m/v) (C), 9 % (m/v) (D) e 10 % (m/v) (E) a uma ampliação de 10.000x.

Com uma ampliação de 1.000x já se podem observar mais pormenorizadamente a morfologia das fibras. Existe também uma particularidade interessante. O quitosano, por ser um polielectrólito, é mais influenciado enquanto atravessa o campo eléctrico e deposita-se na matriz de forma diferente. As fibras não são tão estiradas e tendem a adoptar uma conformação mais aleatória e não rectilínea. As fibras de PVA dispõem-se de maneira linear e essencialmente segundo a direcção em que o colector cilíndrico funcionou. Quando a concentração de PVA é de 10% (m/v) a percentagem de quitosano em função do PVA (m/m) já é menor e as fibras começam a adoptar uma conformação linear segundo uma direcção.

As características morfológicas das fibras podem observar-se pormenorizadamente a uma ampliação de 10.000x. Essencialmente pode ter-se uma maior noção da morfologia das fibras, dos grânulos e do modo como o cruzamento entre fibras é feito (Figura 46).

Foram também analisados os diâmetros das fibras em função da concentração da solução polimérica e da presença de quitosano em solução (Figura 47).

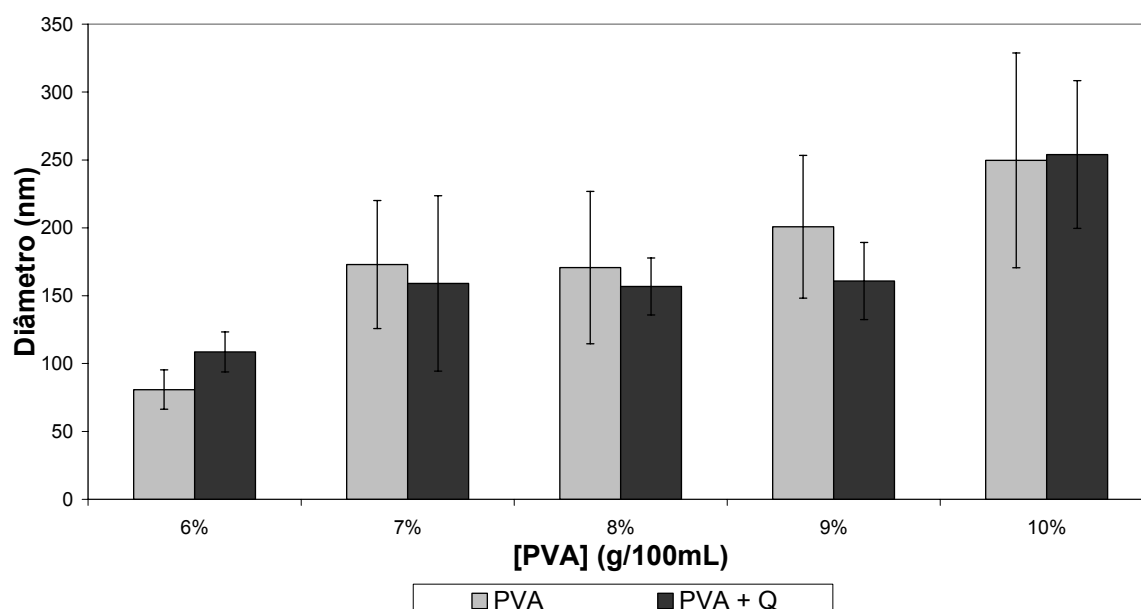


Figura 47: Análise dos diâmetros das fibras de PVA e PVA+quitosano para as cinco concentrações de PVA analisadas.

Embora a dispersão de diâmetros seja elevada, pode observar-se um aumento do diâmetro médio das fibras em função do aumento da concentração de PVA em solução conforme seria de esperar. Ignorando o primeiro caso em que a concentração de PVA é realmente muito baixa e existe uma alternância entre electrospray e electrospinning, podemos observar uma similaridade nos diâmetros das fibras com e sem quitosano. Na maioria dos casos o quitosano até contribui para uma ligeira diminuição desse valor.

A concentração de PVA adoptada para produzir as matrizes a analisar foi 9% (m/v) uma vez que é a concentração mínima à qual se evidenciam fibras praticamente sem grânulos e bem definidas. Os diâmetros encontram-se à volta dos 200 nm para a matriz de PVA 9% e 160 nm para a matriz de PVA 9% + quitosano 0,5%.

Valores de densidade/frequência das fibras, dos grânulos e da porosidade não foram determinados uma vez que só podemos fazer uma análise do número de fibras numa área específica e nunca por volume. Algumas amostras apresentam espessuras diferentes que se traduzem em fibras dispostas em vários planos. Analisar a quantidade de fibras ou de grânulos numa área específica conduz a erros enormes entre amostras de espessuras diferentes.

4.2.2 Fibras de sulfato de dextrano

A produção de fibras de sulfato de dextrano também sofreu, assim como a produção de fibras de PVA e quitosano, um processo de optimização na sua estrutura microscópica. Não existe nada publicado até ao momento acerca de fibras de sulfato de dextrano produzidas por ES e por isso torna-se um processo ainda mais complicado pois não existem condições aproximadas para começar a trabalhar com este polímero através desta técnica. O primeiro passo consistiu em dissolver este polímero em água, uma vez que é bastante hidrofílico, visualizando o aspecto macroscópico da matriz formada e proceder à sua optimização com recurso a algumas técnicas de análise de entre as quais a observação ao SEM ganha uma importância de maior.

O sulfato de dextrano revelou-se, segundo análises anteriores, incompatível em solução com o quitosano, e, até segundo algumas análises prévias não

registadas, incompatível com o PVA. Daí a necessidade de o combinar com esses polímeros já na matriz final utilizando outra seringa só para a solução de SD.

Os resultados obtidos ao SEM para as 6 concentrações de SD encontram-se nas imagens seguintes a 3 ampliações: 250x (Figura 48), 1.000x (Figura 49) e 10.000x (Figura 50).

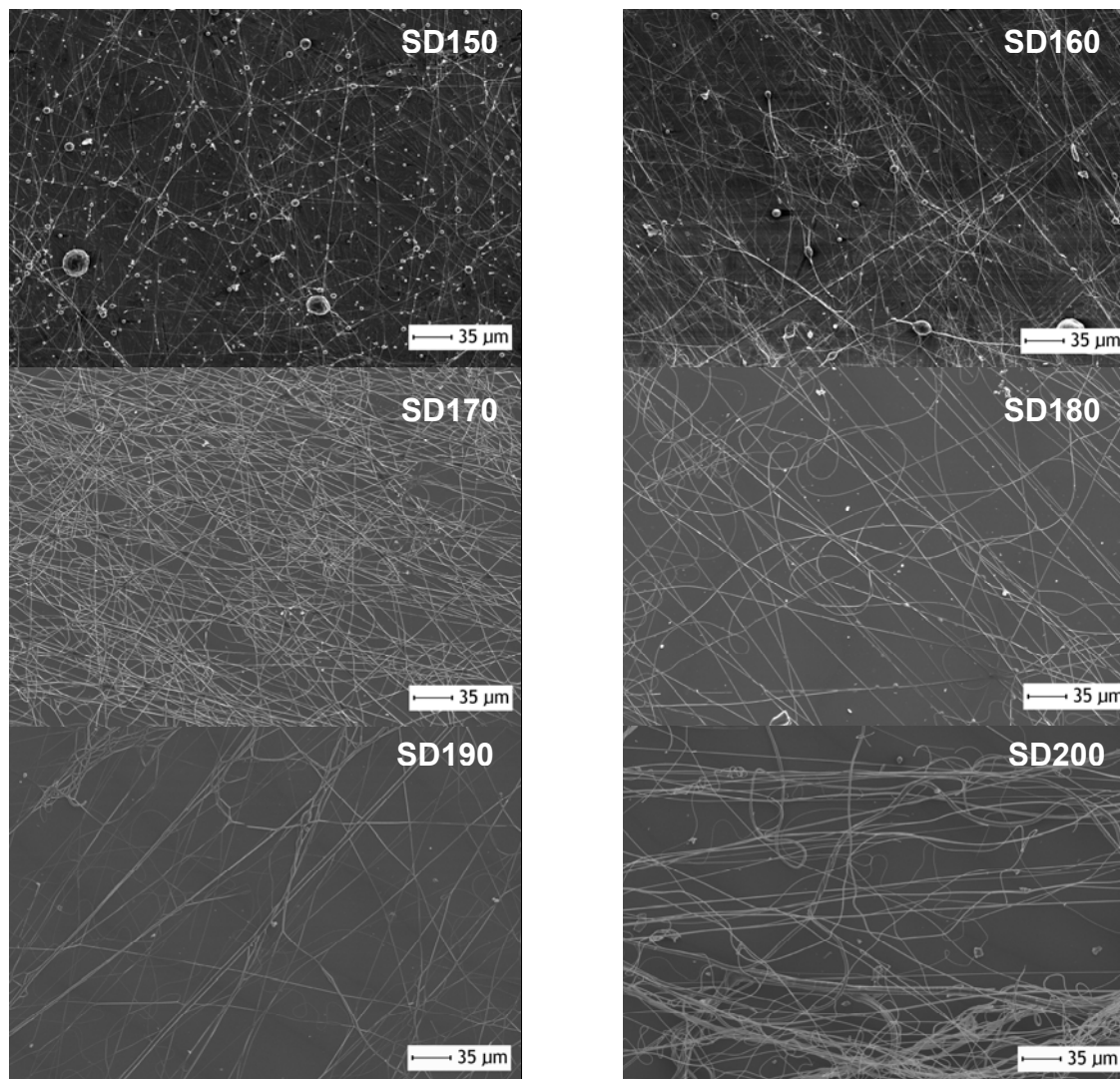


Figura 48: Fibras de sulfato de dextrano preparadas a partir de soluções aquosas em que as concentrações de SD são de 150 %(m/v) (**SD150**), 160 %(m/v) (**SD160**), 170 %(m/v) (**SD170**), 180 %(m/v) (**SD180**), 190 %(m/v) (**SD190**) e 200 %(m/v) (**SD200**) a uma ampliação de 250x.

A uma ampliação de 250x já se podem observar claramente, assim como no caso do PVA, o desaparecimento dos grânulos da matriz à medida que a concentração de SD aumenta.

É de notar também o aumento da irregularidade dos diâmetros das fibras a concentrações bastante elevadas (190% e 200%).

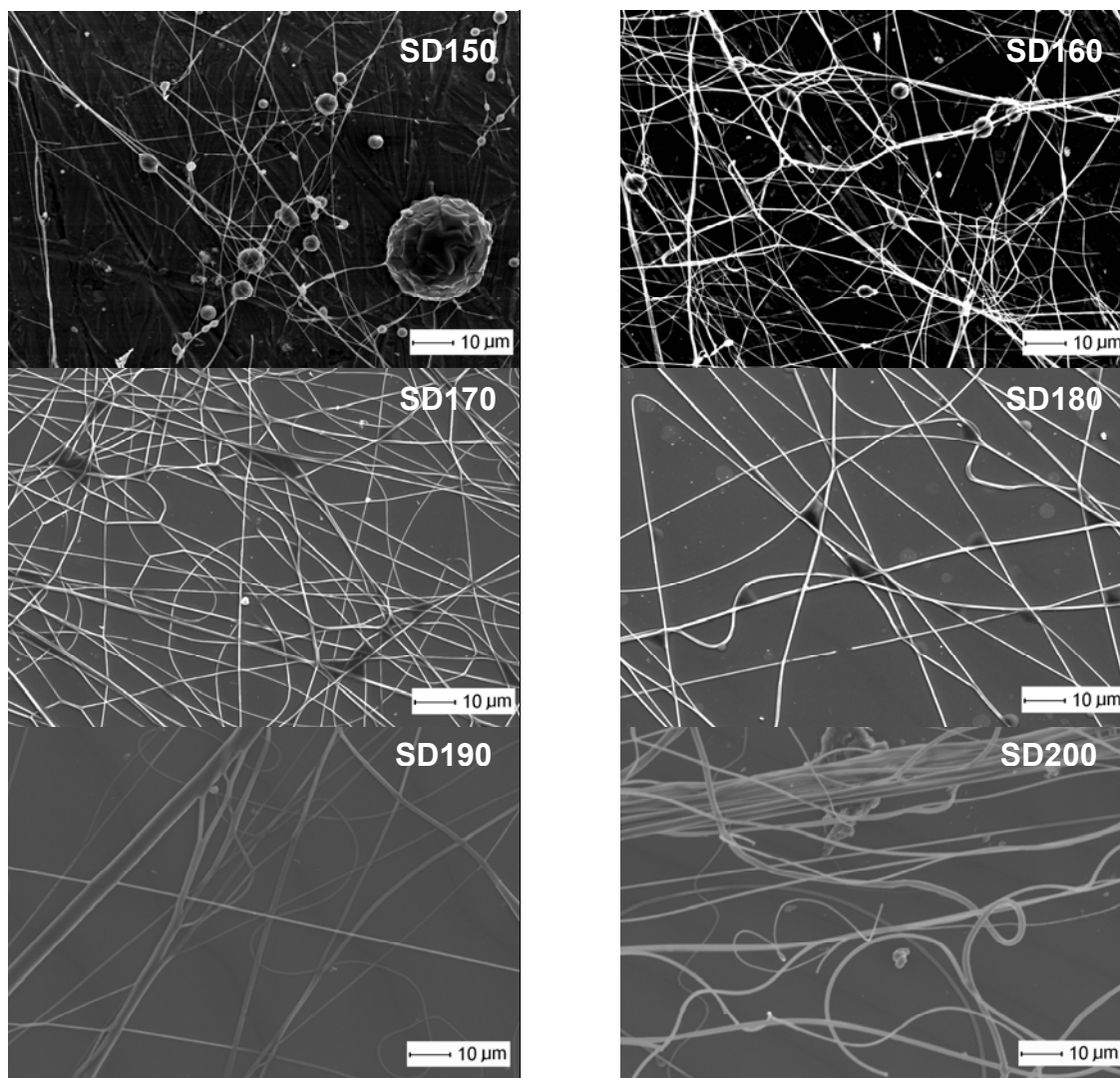


Figura 49: Fibras de sulfato de dextrano preparadas a partir de soluções aquosas em que as concentrações de SD são de 150 % (m/v) (**SD150**), 160 % (m/v) (**SD160**), 170 % (m/v) (**SD170**), 180 % (m/v) (**SD180**), 190 % (m/v) (**SD190**) e 200 % (m/v) (**SD200**) a uma ampliação de 1.000x.

Com uma ampliação de 1 000x já se podem observar com mais pormenor o aspecto das fibras e dos grânulos. Os grânulos formados por este polímero adoptam tendencialmente uma forma esférica ao contrário das formas alongadas dos grânulos de PVA e da maior parte da bibliografia existente acerca desta técnica. É de salientar também, e assim como nas soluções que tinham quitosano, o modo como o estiramento é feito em que as fibras adoptam conformações que não se orientam no sentido de rotação do colector, adoptam conformações aleatórias não lineares. Talvez seja pelo facto de, assim como o quitosano, ser um polielectrólito e ser bastante influenciado pelo campo eléctrico.

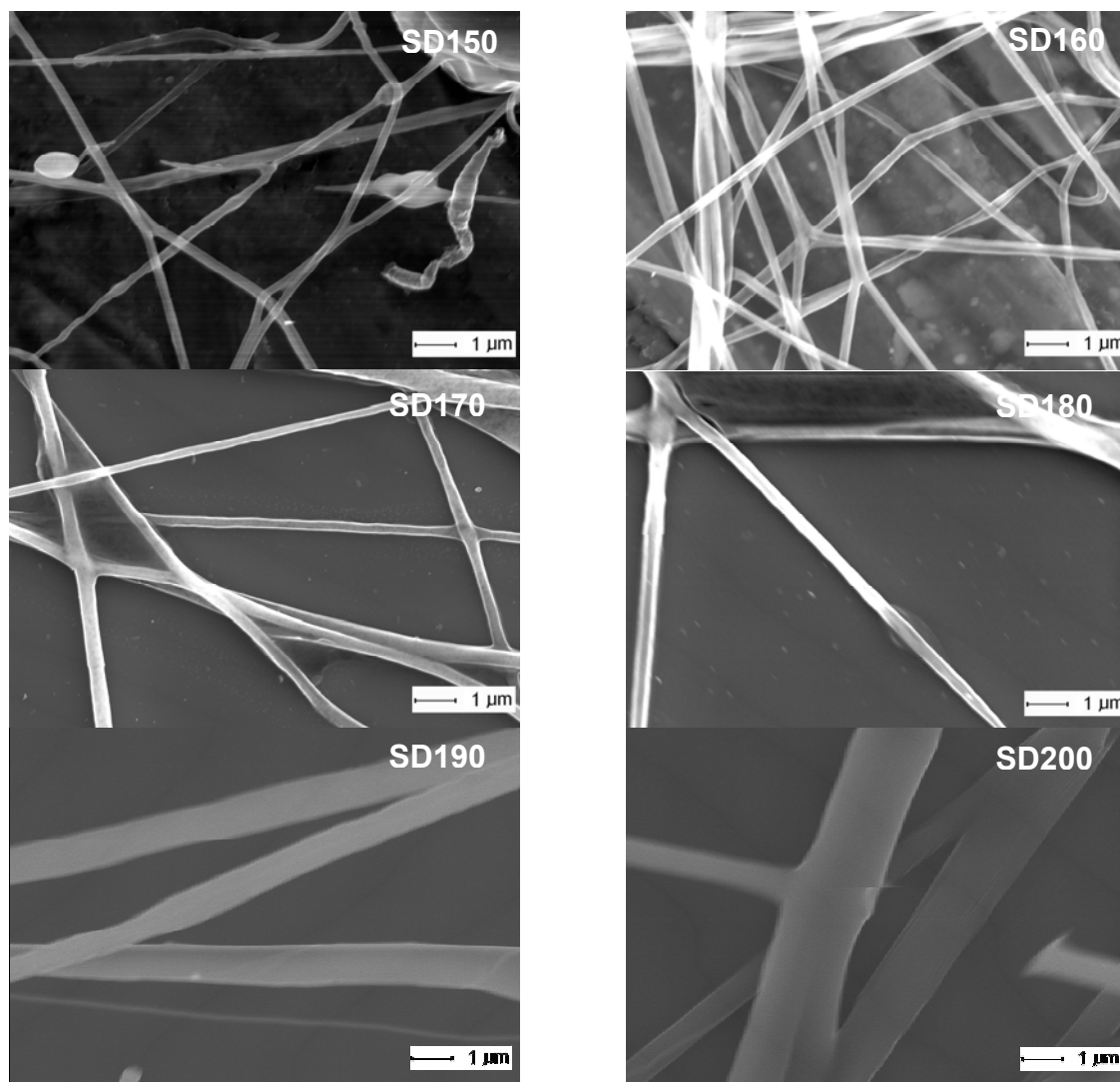


Figura 50: Fibras de sulfato de dextrano preparadas a partir de soluções aquosas em que as concentrações de SD são de 150 % (m/v) (**SD150**), 160 % (m/v) (**SD160**), 170 % (m/v) (**SD170**), 180 % (m/v) (**SD180**), 190 % (m/v) (**SD190**) e 200 % (m/v) (**SD200**) a uma ampliação de 10.000x.

A uma ampliação de 10.000x pode-se observar com mais pormenor o aspecto das ligações entre as fibras e do seu cruzamento. Parece que apenas as fibras em que existe uma maior concentração de SD não apresentam tendência para unir as fibras através de uma “fusão” nos cruzamentos ou mesmo através da presença de uma película com o aspecto de “membrana interdigital”. Concentrações menores têm maior quantidade de solvente presente e esse resíduo de solvente ao chegar à matriz junto com a fibra pode provocar a sua dissolução nas zonas de cruzamento entre elas.

O aspecto não cilíndrico e irregular observado na ampliação 10.000x será provavelmente um artefacto relacionado com a grande sensibilidade deste

material ao feixe electrónico incidente durante a observação. De facto, com a ampliação 1.000 x, estas fibras apresentam morfologia cilíndrica e regular.

Utilizando o exemplo da amostra SD200 da Figura 50 podemos observar que durante o processamento e recolha da imagem a fibra partiu. Também na mesma imagem na amostra SD190 se pode verificar que as fibras deixaram de estar bem definidas para apresentarem muitas irregularidades superficiais.

Posteriormente foram analisados os diâmetros de todas as amostras (Figura 51) e pode verificar-se, também para este polímero, a tendência do aumento dos diâmetros das fibras com o aumento da concentração de SD.

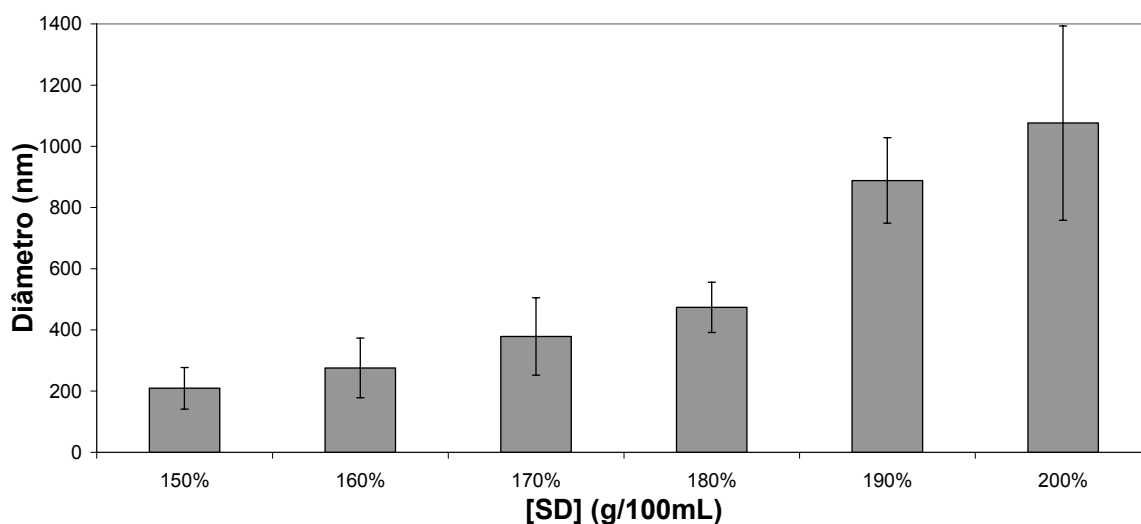


Figura 51: Gráfico representativo dos valores dos diâmetros das fibras de SD.

A concentração adoptada para a produção de matrizes fibrosas foi 170% (m/v) uma vez que é a concentração mínima à qual se verifica o desaparecimento dos grânulos e a formação de fibras regulares e bem definidas. O diâmetro médio das fibras é cerca de 380 nm para esta concentração de SD.

Mais uma vez foram afastadas as hipóteses de análise do número de fibras e/ou grânulos por unidade de área pelos mesmos motivos apresentados para as fibras de PVA e PVA+quitosano. As diferentes espessuras das matrizes levam a um diferente número de planos, prova disso é a existência de amostras que têm fibras sobre fibras e outras que simplesmente têm algumas fibras depositadas directamente sobre o suporte. O mais exacto seria avaliar o número de fibras e/ou grânulos por unidade de volume e isso seria bastante complicado de realizar.

4.2.3 Fibras de PVA + sulfato de dextrano

Nesta secção são apresentados os resultados da primeira combinação de fibras de dois polímeros submetidos a electrospinning através de seringas distintas. Numa seringa foi utilizada uma solução de PVA a 9% (m/v) dissolvido em ácido acético 2% (v/v), noutra seringa foi colocada uma solução de sulfato de dextrano a 170% (m/v) dissolvido em água. A Figura 52 representa o aspecto da matriz final observada ao SEM. Estão representadas duas imagens para cada ampliação para que possa ser feita uma análise mais pormenorizada ao aspecto microscópico da matriz.

Podem observar-se claramente dois tipos de fibras bem diferenciados pelas suas dimensões. Segundo a análise anterior ao diâmetro das fibras verificou-se que as fibras de PVA 9% (m/v) apresentavam diâmetros de 201 ± 53 nm enquanto que as fibras de SD a 170% (m/v) apresentam diâmetros de 379 ± 127 nm. Segundo esta tendência as fibras de maiores diâmetros que atravessam a matriz são as fibras de SD. Outro facto que o comprova é o facto das fibras de menores diâmetros terem sido estiradas e adoptando uma linearidade bem definida enquanto que as de maiores dimensões aparentam apresentar uma relativa curvatura.

O cruzamento entre estes dois tipos de fibras não aparenta ter nenhum tipo de ligação específica nem de interacção, parecem simplesmente cruzar-se sem alterarem a sua morfologia.

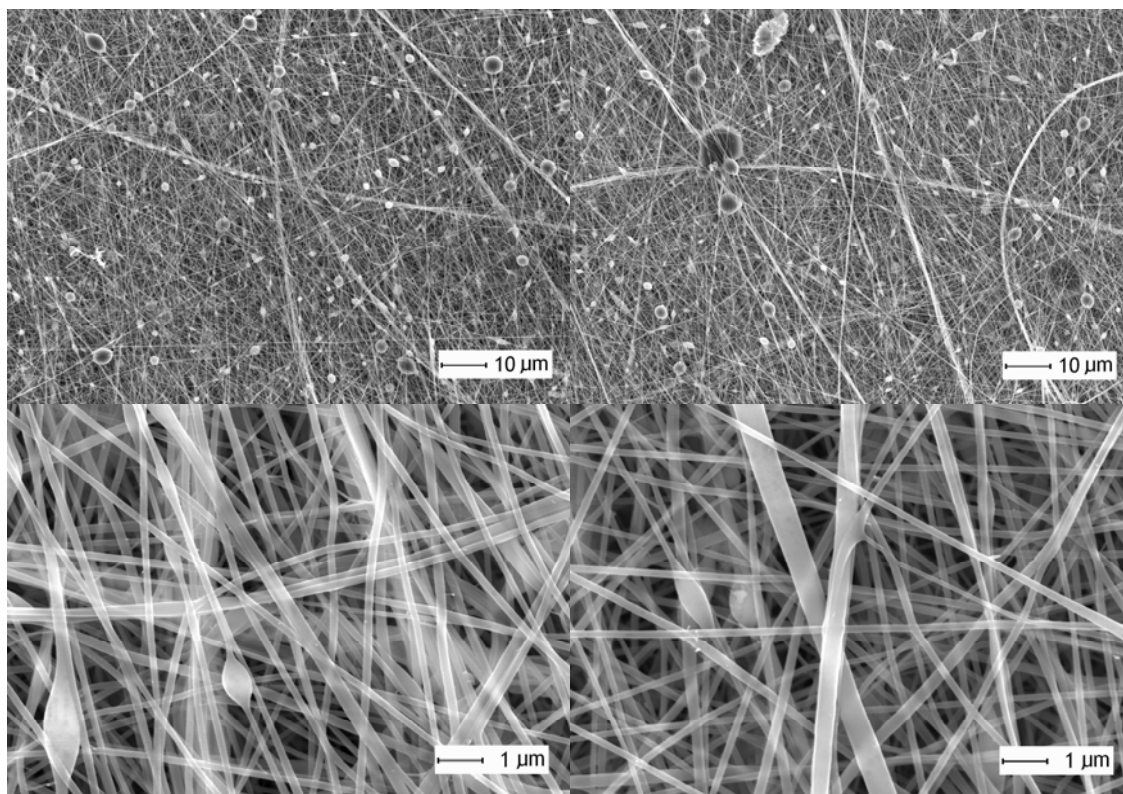


Figura 52: Matrizes de PVA e SD a duas ampliações: 1.000x (cima) e 10.000 (baixo).

4.2.4 Fibras de PVA + quitosano + sulfato de dextrano

Dando seguimento aos resultados anteriores e relatando a essência deste projecto surgem então aqui discriminados os primeiros resultados da combinação dos três polímeros numa só matriz. Na primeira seringa foi colocada uma solução de PVA a 9% (m/v) e quitosano 0,5% (m/v) dissolvidos em ácido acético 2% (v/v), enquanto que na segunda seringa foi colocada uma solução de sulfato de dextrano a 170% (m/v) em água. A Figura 53 representa o aspecto da matriz final observada ao SEM. Estão representadas duas imagens para a ampliação de 1.000x e três imagens a 10.000x para que possa ser feita uma análise mais pormenorizada ao aspecto microscópico da matriz.

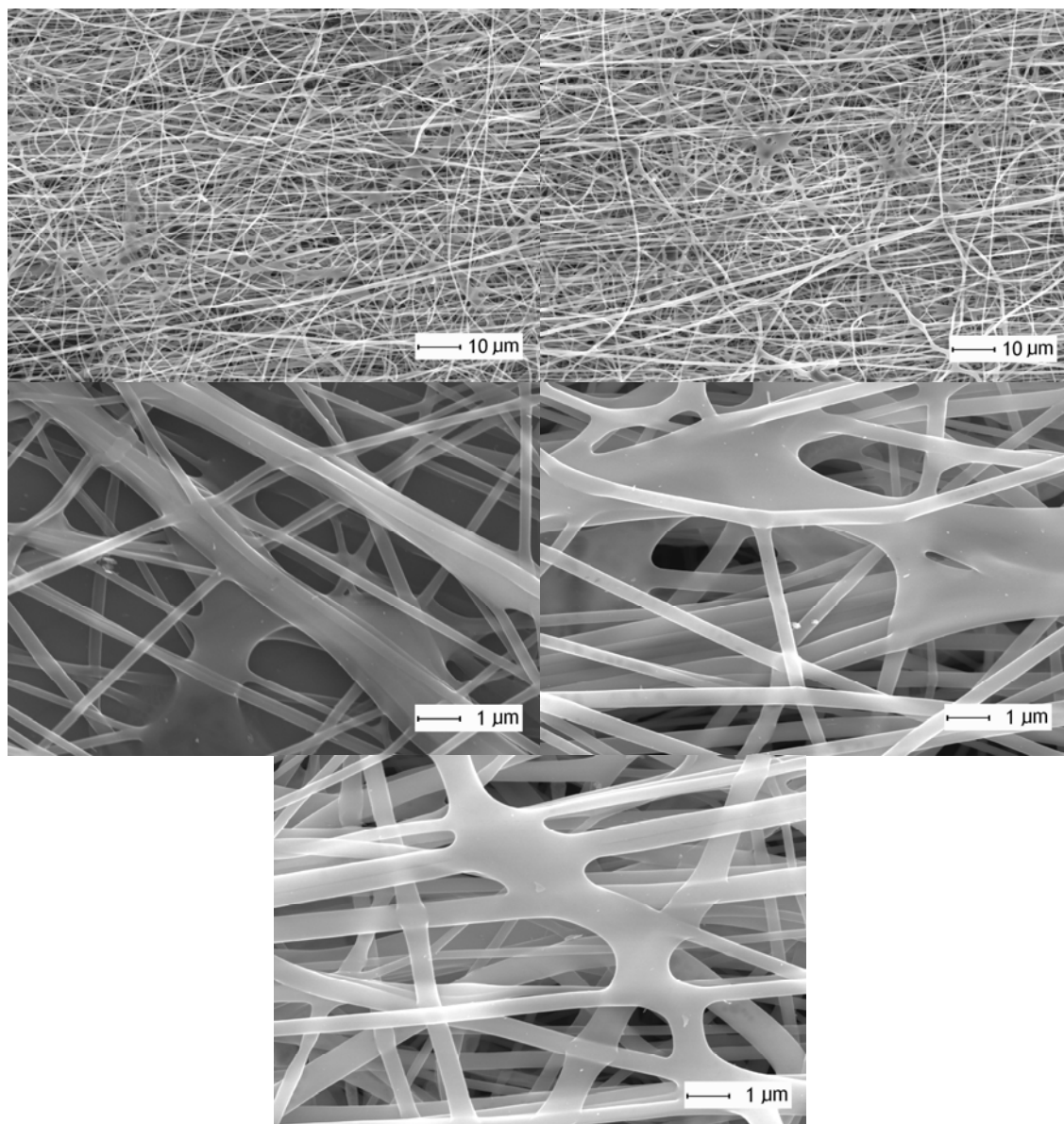


Figura 53: Matrizes de PVA, quitosano e SD a duas ampliações: 1.000x (cima) e 10.000 (baixo).

Neste caso, e ao contrário das fibras de PVA + sulfato de dextrano, já não existe uma diferenciação tão acentuada no aspecto das fibras que se possa facilmente notar a uma ampliação de 1.000x. No entanto, a 10.000x podemos observar claramente fibras substancialmente mais grossas (SD) e que parecem adoptar um formato de uma película de ligação nas zonas de cruzamento. A presença deste tipo de ligações já foi visualizada na Figura 50, no entanto estas aparentam ser mais frequentes e englobam todas as fibras adjacentes. Isto pode funcionar como um material de coesão entre fibras remetendo estas matrizes para materiais compósitos em que a fase contínua são as fibras de PVA+quitosano e o SD funciona como material de reforço estrutural. Quando foi efectuada a tentativa

inicial de solubilização de quitosano e sulfato de dextrano em solução observou-se que o agregado/precipitado que se formava no tubo de ensaio era uma substância bastante resistente e com alguma elasticidade. Depois de todo o solvente ter volatilizado o resultado foi um composto bastante rígido e nada elástico. Depois destes resultados torna-se importante analisar as propriedades mecânicas das matrizes.

4.3 Propriedades mecânicas das matrizes

Como já foi referido na secção anterior, depois de analisadas as várias concentrações dos polímeros a utilizar em função do aspecto microscópico das matrizes resultantes, passamos à sua combinação na matriz. Depois de observarmos que realmente conseguimos compilá-los na mesma matriz e observar a sua morfologia passamos a analisar as propriedades dessa matriz.

A zona A (Figura 54) e zona B (Figura 55) de cada matriz produzida têm o seu perfil traçado relativamente às suas propriedades mecânicas. Foram registadas as alterações sofridas na tensão aplicada em função da deformação imposta para um deslocamento de $0,5 \text{ mm.s}^{-1}$.

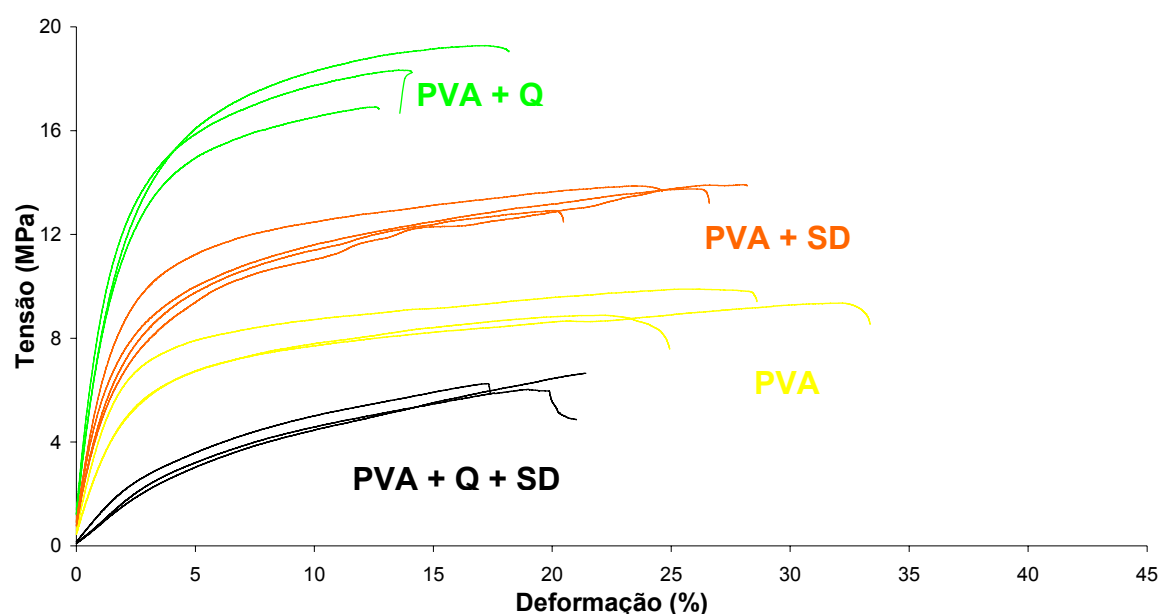


Figura 54: Comportamento no texturómetro em relação a amostras da zona A das quatro matrizes. Curva de Tensão em função da Deformação.

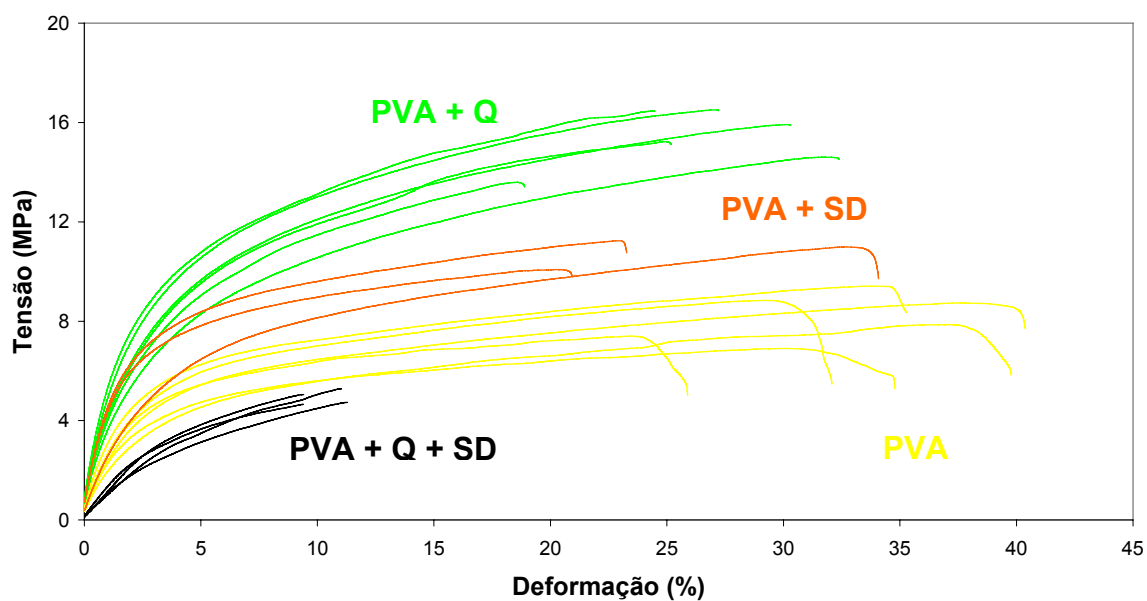


Figura 55: Comportamento no texturômetro em relação a amostras da zona B das quatro matrizes. Curvas de Tensão em função da Deformação.

Depois de analisadas as réplicas foram criados gráficos com os valores de rigidez das matrizes (Figura 56), força de tensão no ponto de ruptura (Figura 57) e taxa de alongamento (Figura 58).

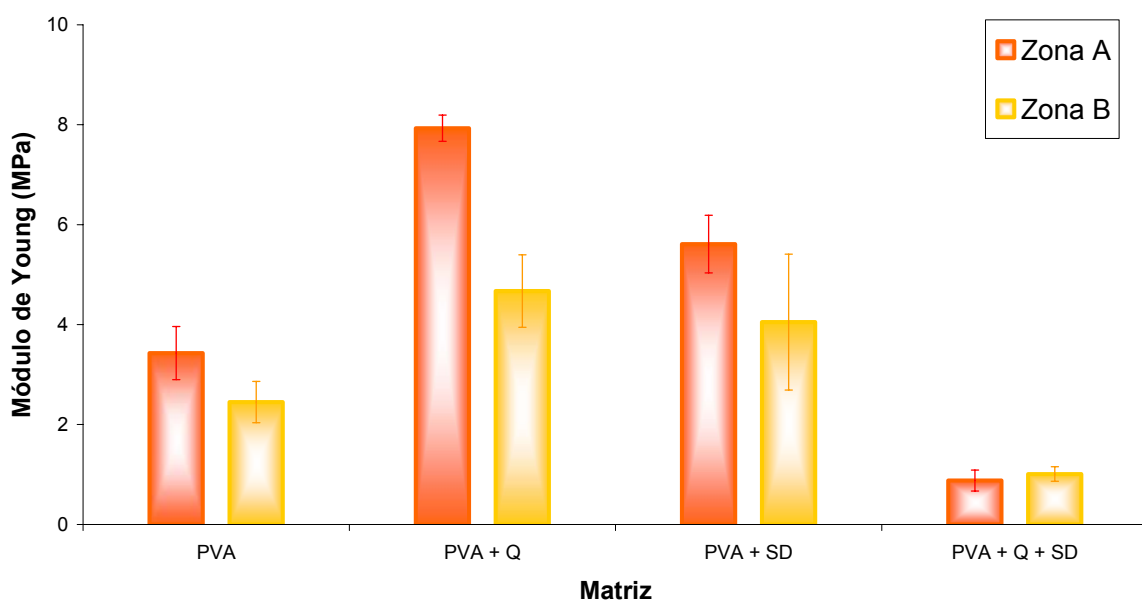


Figura 56: Rigidez (módulo de Young) das matrizes que traduz a variação da tensão com a deformação sofrida na zona linear inicial, na qual a amostra tem um comportamento elástico.

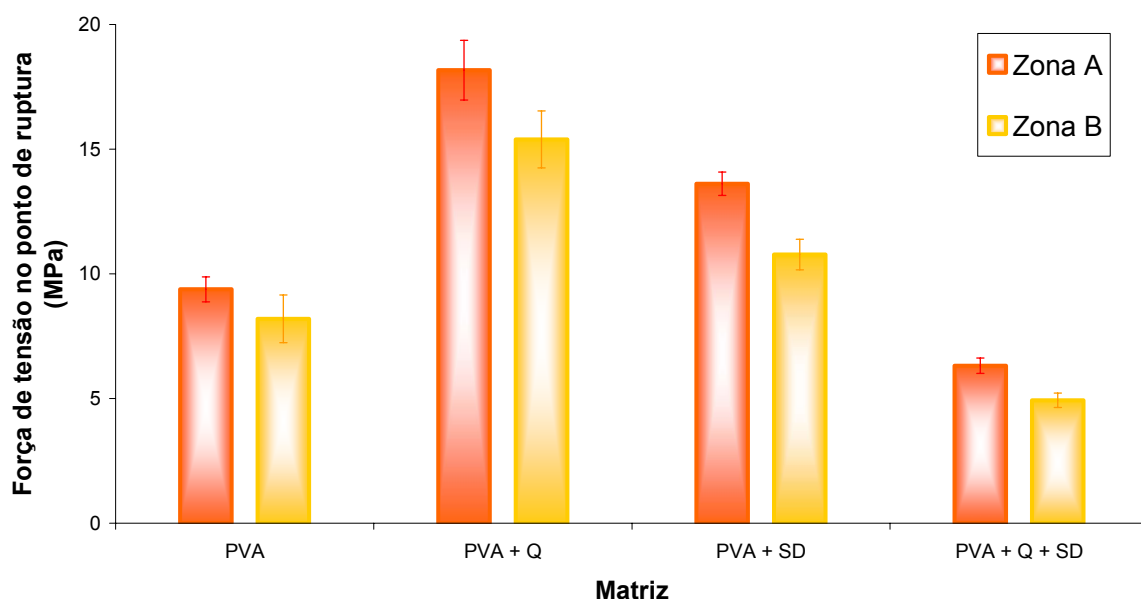


Figura 57: Tensão máxima que as matrizes suportam antes da sua ruptura.

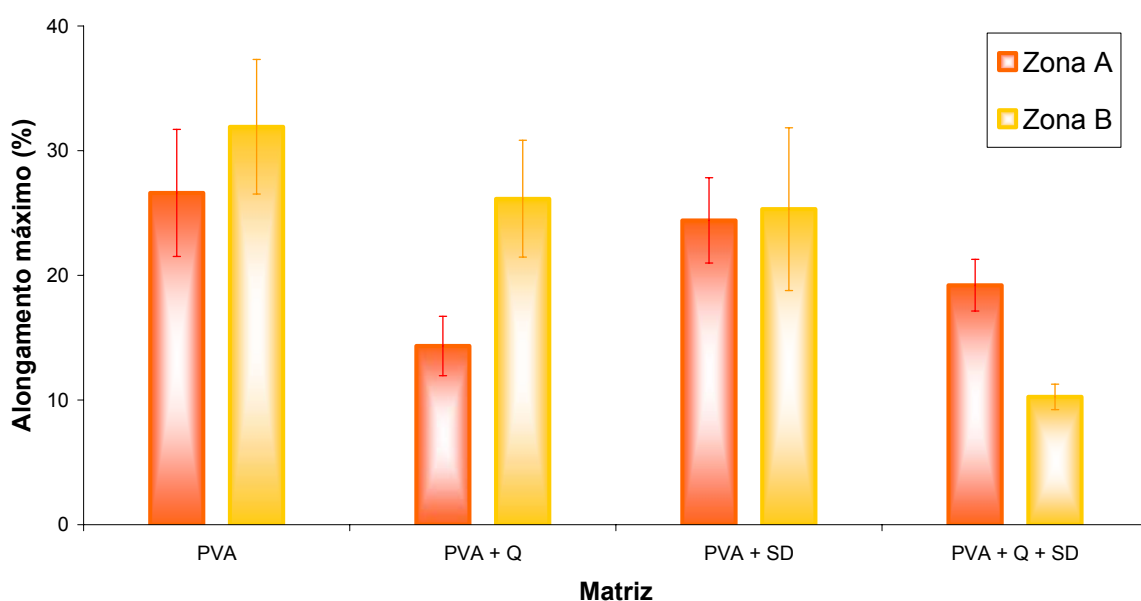


Figura 58: Taxa de alongamento das matrizes que se traduz na percentagem de deformação que as matrizes aguentam antes da sua ruptura.

Foram também registados todos os resultados na Tabela 10 para que possa ser feito um apanhado geral do perfil das várias amostras.

Pode ser visto claramente que a presença de sulfato de dextrano na matriz de PVA aumenta a sua rigidez e a resistência à ruptura, a presença de apenas 0,5% (m/v) de quitosano na solução de PVA tem um efeito de aumento de rigidez e resistência à ruptura da matriz ainda superior ao da presença de SD. No

entanto, quando combinamos a presença de quitosano e sulfato de dextrano na mesma matriz os seus valores de rigidez e resistência à ruptura decaem bastante ao contrário do que estava inicialmente previsto.

Tabela 10: Registo dos valores de rigidez, tensão no ponto de ruptura e taxa de deformação das amostras.

Matriz	Zona	Rigidez (MPa)	Tensão no ponto de ruptura (MPa)	Taxa de alongamento (%)
PVA	A	343,49 ± 0,53	9,38 ± 0,50	26,61 ± 5,09
	B	245,49 ± 0,41	8,20 ± 0,96	31,91 ± 5,40
PVA + Q	A	793,44 ± 0,26	18,17 ± 1,19	14,33 ± 2,38
	B	467,21 ± 0,72	15,39 ± 1,14	26,14 ± 4,68
PVA + SD	A	561,44 ± 0,58	13,62 ± 0,47	24,41 ± 3,43
	B	405,14 ± 1,36	10,77 ± 0,61	25,30 ± 6,53
PVA + Q + SD	A	87,82 ± 0,21	6,31 ± 0,31	19,21 ± 2,07
	B	100,79 ± 0,15	4,93 ± 0,29	10,25 ± 1,02

No que se refere ao alongamento máximo, a matriz de PVA é a que suporta uma maior taxa de deformação. A adição, tanto de quitosano como de SD, diminui o alongamento das matrizes sendo que o quitosano tem uma maior influência nesse processo.

Mais uma vez a combinação de quitosano e SD na mesma matriz foi prejudicial para as propriedades de alongamento da matriz, verificando-se uma redução notória na deformação que a matriz fibrosa consegue suportar antes da ruptura.

As ligações observadas entre fibras de SD parece ter tornado a matriz mais frágil e quebradiça em vez de a reforçarem ou lhe conferirem maior alongamento.

4.4 Ângulos de contacto

Os resultados obtidos relativamente às propriedades mecânicas das matrizes permitiram avaliar a maneira como os componentes das matrizes podem ser manipulados para obter diferentes valores de resistência, rigidez e alongamento. Surpreendentemente os valores registados para a matriz que combina os três polímeros (grande objectivo proposto inicialmente) indicam que a matriz é muito mais frágil que todas as outras.

Deste modo torna-se essencial saber o carácter funcional destas matrizes pois a matriz que combina os três polímeros não é viável como material de reforço. Para uma análise das características funcionais a análise dos ângulos de contacto funciona como uma primeira abordagem às características superficiais das matrizes.

Conforme já foi referido só houve hipótese de analisar o comportamento de um líquido bastante polar (água). A água tende a diminuir ligeiramente o seu ângulo de contacto com as matrizes ao longo do tempo (Figura 59).

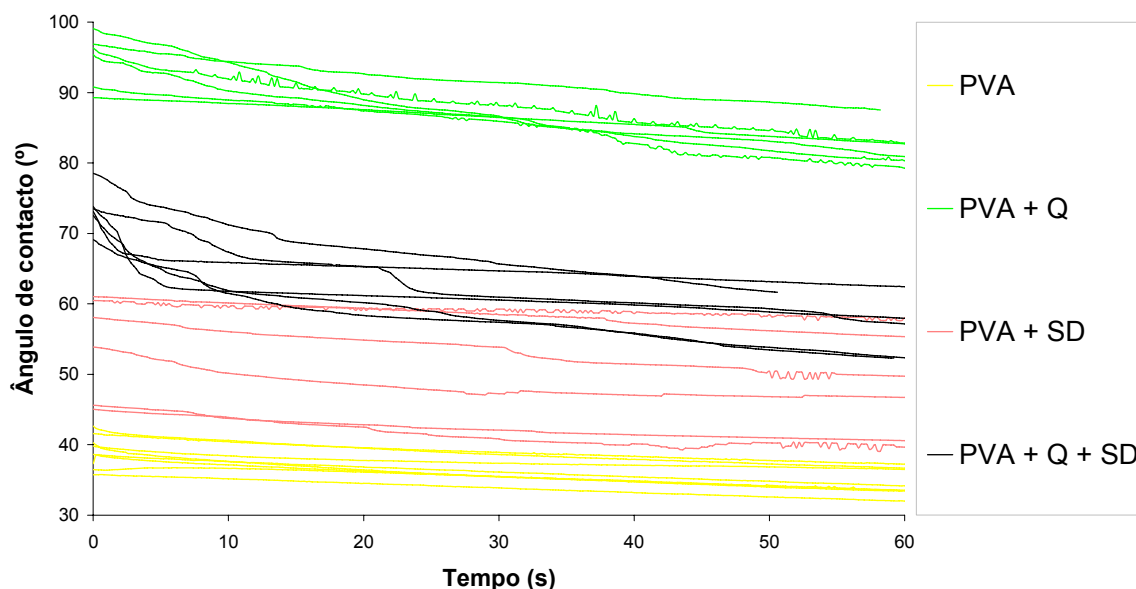


Figura 59: Ângulo de contacto da água com as matrizes em função do tempo.

Conforme pode ser observado a matriz de PVA aparenta ser a mais hidrofílica e a matriz de PVA+quitosano a mais hidrofóbica. Os restantes

resultados parecem ser coerentes uma vez que os ângulos de contacto para a matriz que compila os três polímeros estão localizados entre os valores das matrizes de PVA+quitosano e PVA+quitosano+SD. Curiosamente, apesar do sulfato de dextrano ser bastante hidrofílico, a sua incorporação na matriz com PVA faz aumentar o ângulo de contacto, ou seja, a matriz PVA+SD é mais hidrofóbica que a matriz de PVA.

Apesar de todos os valores dos ângulos de contacto variarem ao longo do tempo nunca chegam a estabilizar. Isto deve-se ao facto de alguma água ir evaporando e também pelo facto das matrizes absorverem a água uma vez que são materiais extremamente porosos.

Deste modo foram utilizados os valores dos instantes iniciais como valores de comparação entre matrizes (Figura 60).

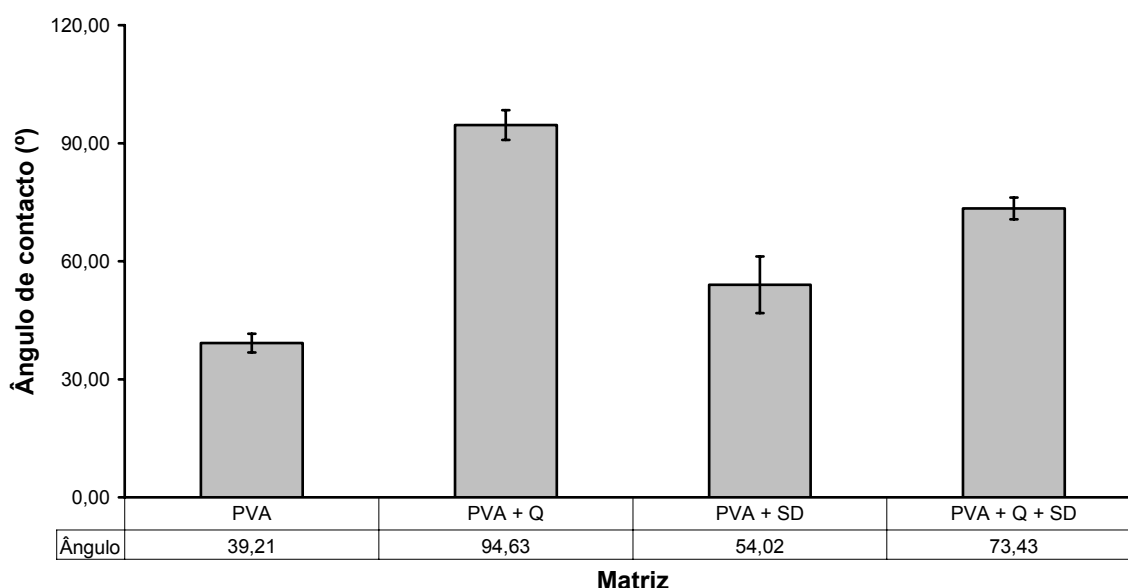


Figura 60: Gráfico e tabela de resultados relativos aos ângulos de contacto que a água estabelece com a superfície das matrizes e as imagens recolhidas para cada matriz.

Também foi referida anteriormente a capacidade do aparelho utilizado conseguir fazer uma aproximação do volume de solvente depositado ao longo do tempo. Isso pode ser útil para a avaliação da capacidade de absorção de água das matrizes e pode representar uma contribuição para a diminuição dos ângulos de contacto ao longo do tempo.

A quantidade de água em função do tempo decorrido após a deposição está registada no gráfico da Figura 61. É óbvio que a variação do volume de água pode ser devido à evaporação da água, mas todas as amostras apresentam valores de variação diferentes. Portanto pode afirmar-se que pelo menos três das quatro matrizes (todas menos a matriz de PVA+quitosano) absorvem alguma água.

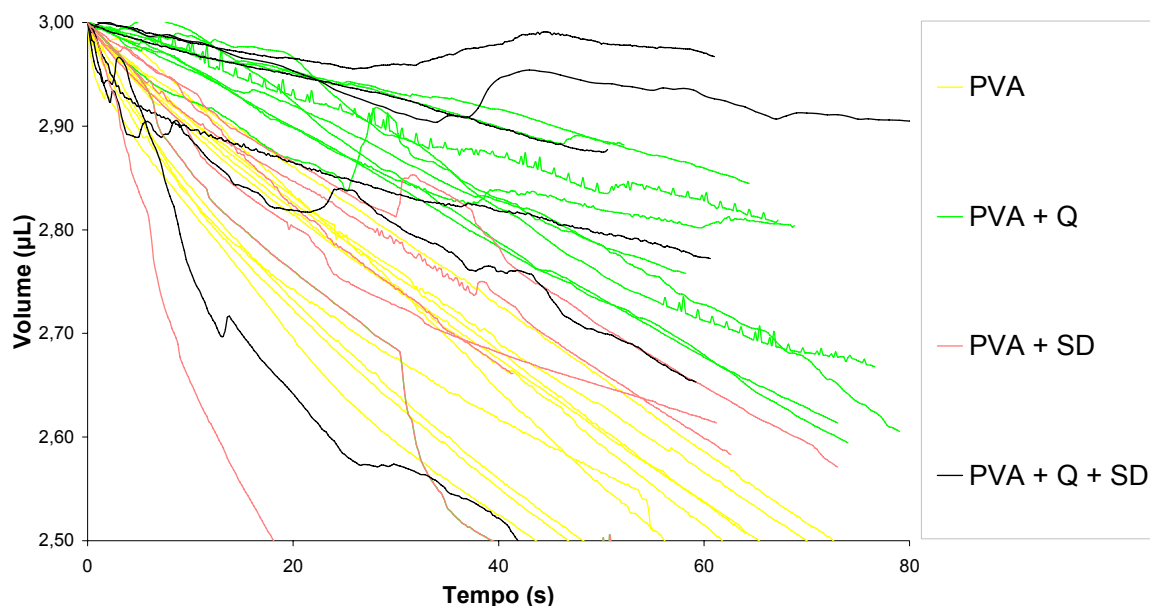


Figura 61: Volume de água à superfície das matrizes ao longo do tempo.

Já se concluiu que a matriz de PVA+quitosano é a mais hidrofóbica e por isso são coerentes os valores de absorção de água para esta matriz. A presença de quitosano diminui a capacidade de absorção da matriz. As matrizes que têm sulfato de dextrano na sua constituição têm uma capacidade de absorção muito irregular podendo variar bastante em diferentes locais da mesma matriz. A matriz de PVA+SD aparenta ter valores de absorção médios semelhantes aos da matriz de PVA mas com uma amplitude, e consequentemente um desvio padrão, muito superior. Ao adicionar mais um polímero (quitosano) a amplitude de resultados aumenta significativamente apresentando valores de absorção a toda a escala relativa às outras matrizes. Isto também comprova a heterogeneidade e irregularidade da matriz que compila os três polímeros.

A manipulação dos polímeros constituintes pode ser uma maneira de controlar a hidrofobicidade e a capacidade de absorção de água das matrizes.

Além das análises estruturais e superficiais das matrizes (SEM, propriedades mecânicas e ângulos de contacto) também foram desenvolvidos testes de análise das características das soluções poliméricas que são apresentados já de seguida.

4.5 Viscosidade

A viscosidade, como força que se opõe à saída do polímero da agulha da seringa e da formação do cone de Taylor, é uma variável importante que convém conhecer. Foram estudados os valores de viscosidade para as soluções de PVA e PVA+quitosano (Figura 62), assim como para as soluções de sulfato de dextrano (Figura 64).

4.5.1 PVA e quitosano

Em primeiro lugar foram determinados os valores de viscosidade para as 5 soluções de concentrações diferentes de PVA com e sem quitosano incorporado, e ainda foi determinada a viscosidade da solução de quitosano 0,5% (m/v) (Figura 62).

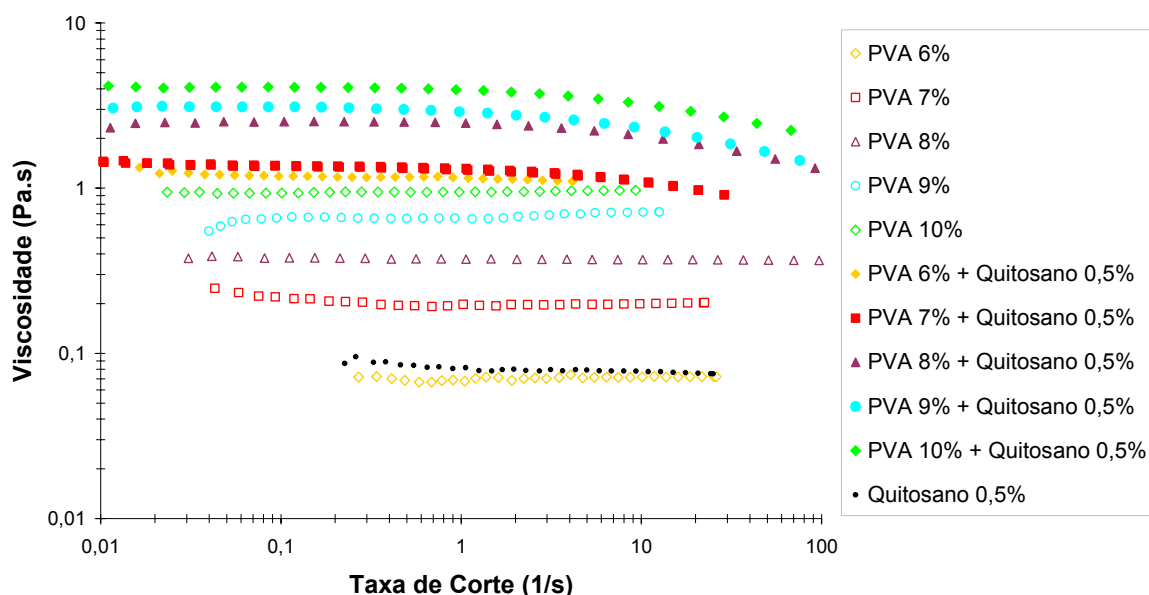


Figura 62: Viscosidades relativas às várias soluções de PVA, quitosano e PVA + quitosano.

Em primeiro lugar pode constatar-se que as soluções de PVA e a solução de quitosano 0,5% (m/v) apresentam um comportamento essencialmente

newtoniano, enquanto que as soluções dos dois polímeros apresentam maior viscosidade e um comportamento reo-fluidificante.

Para uma comparação de viscosidade entre amostras foram considerados os valores de viscosidade a uma taxa de corte de 1 s^{-1} e apresentados os resultados da viscosidade em função da concentração de PVA (Figura 63).

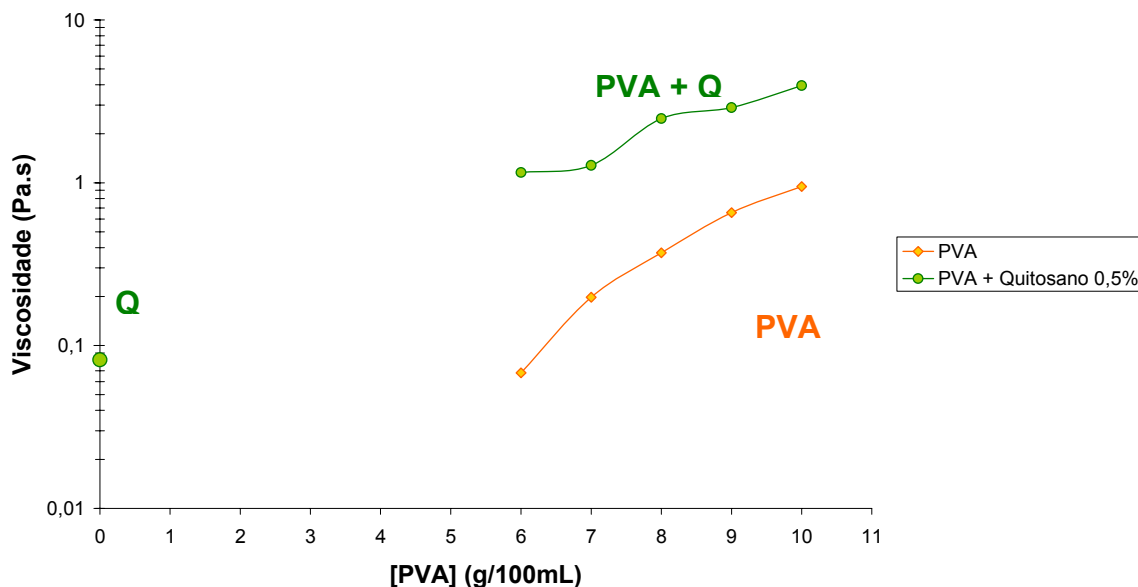


Figura 63: Gráfico da viscosidade em função da concentração de PVA, com e sem quitosano incorporado a uma taxa de corte de 1 s^{-1} .

A adição de apenas 0,5% de quitosano às soluções faz aumentar significativamente os valores de viscosidade.

A concentração de PVA a partir da qual já se observam fibras sem grânulos e bem definidas é de 9% e isso quer dizer que o limite a partir do qual esta morfologia é conseguida está entre os valores de 8 e 9%. Esse limite traduzido em valores de viscosidade é de aproximadamente 0,5 Pa.s para as soluções de PVA e 2,7 Pa.s para as soluções de PVA+quitosano.

4.5.2 Sulfato de dextrano

Depois da análise às soluções de PVA e quitosano foram determinados os valores de viscosidade para as 5 soluções de concentrações diferentes de sulfato de dextrano (Figura 64).

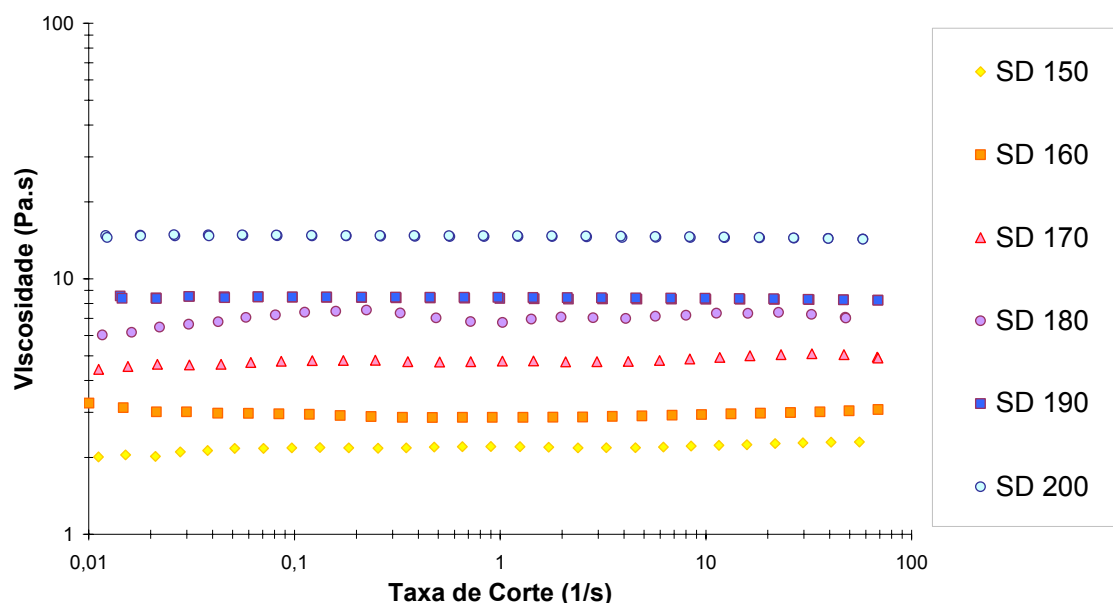


Figura 64: Viscosidades relativas às várias soluções de sulfato de dextrano analisadas.

Em primeiro lugar pode constatar-se a linearidade que as soluções apresentam dentro da amplitude de taxa de corte $0,01$ a 100 s^{-1} , ou seja, o seu comportamento newtoniano. Com isto não podemos afirmar que as soluções são fluidos newtonianos, mas sim que dentro desta amplitude se comportam desse modo. Para uma comparação de viscosidade entre amostras foram mais uma vez considerados os valores de viscosidade a uma taxa de corte de 1 s^{-1} e apresentados os resultados da viscosidade em função da concentração de SD (Figura 65).

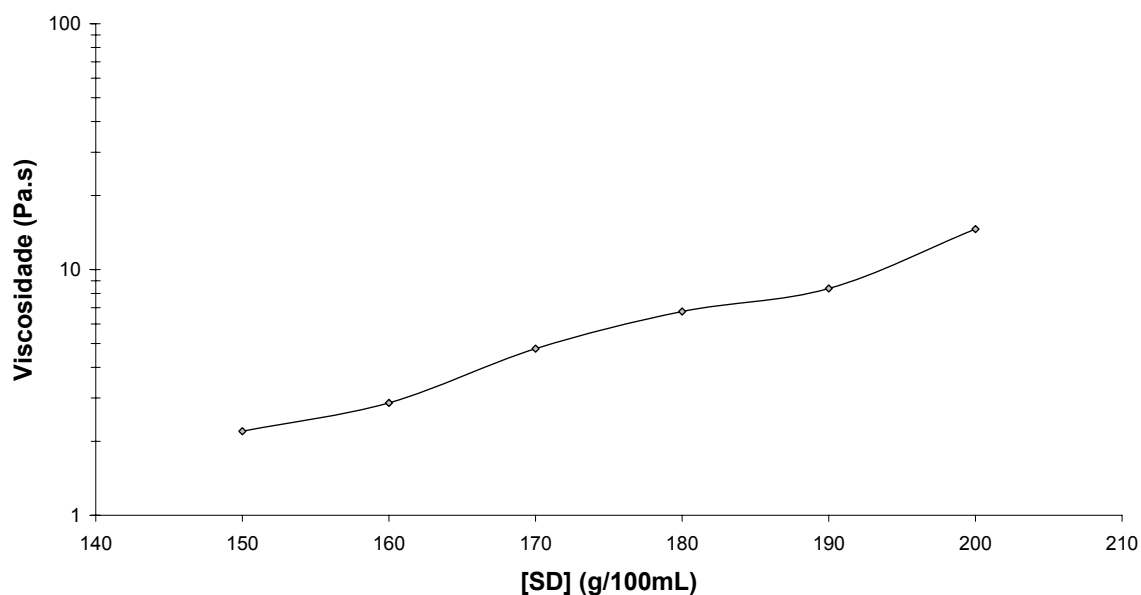


Figura 65: Gráfico da viscosidade em função da concentração de SD a uma taxa de corte de 1 s^{-1} .

Em geral, as soluções de SD têm viscosidades superiores às soluções de PVA e quitosano. Tem que ser levado em conta o facto das suas concentrações também serem muito superiores. A 200% (m/v) de SD já se apresentam valores superiores a 10 Pa.s. O resultado é a enorme dificuldade que o campo eléctrico tem em estirar a solução polimérica e “arrancar” as fibras da agulha. Na Figura 48 da página 68 e na Figura 49 da página 69 pode ser observada a irregularidade, heterogeneidade e aumento do diâmetro das fibras a esta concentração.

O valor de concentração a partir do qual já se observam fibras sem grânulos e bem definidas é de 170 % (m/v) o que significa que o limite a partir do qual esta morfologia é conseguida está localizado entre 160 e 170%. Isso traduz-se num valor de viscosidade de aproximadamente 3,0 Pa.s.

4.6 Condutividade eléctrica

A condutividade eléctrica das soluções também é um parâmetro importante para avaliar a capacidade que as soluções têm em ser atravessadas por uma corrente eléctrica e consequentemente a sua aptidão para formar fibras por electrospinning.

Infelizmente, e conforme já foi referido anteriormente, não foram realizadas análises de condutividade eléctrica para as soluções de sulfato de dextrano.

Os valores de condutividade relativos à Tabela 8 da página 58 encontram-se descritos na Figura 66 e na Figura 67 (valores aos quais foi subtraída a condutividade do solvente).

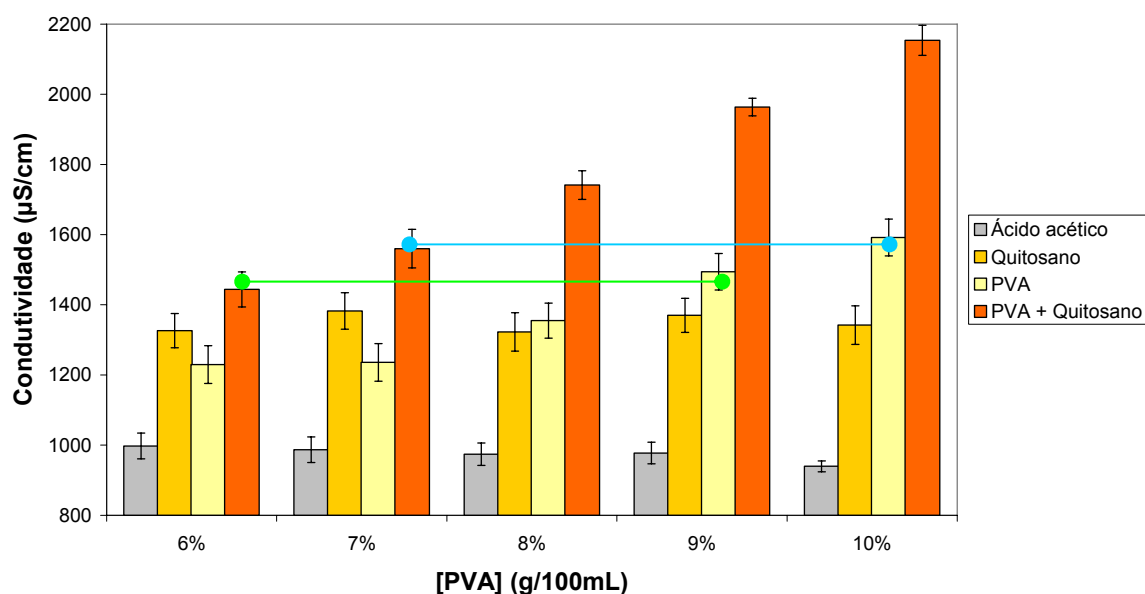


Figura 66: Gráfico dos valores de condutividade eléctrica para todos os constituintes das soluções de PVA a cinco concentrações. Valores apresentados para o solvente utilizado na preparação de cada solução, para as soluções de cada polímero individualmente e para a mistura Q+PVA em ácido acético 2%.

Numa primeira análise verificam-se que tanto o solvente (ácido acético) como a solução de quitosano 0,5 % (m/v) mantêm a sua condutividade constante em todos os casos uma vez que são amostras com as mesmas características para todos os casos.

Tanto as amostras de PVA como as de PVA+quitosano aumentam a sua condutividade à medida que a concentração de PVA aumenta. A contribuição do quitosano para o aumento da condutividade é muito superior à contribuição do PVA, o que não é de estranhar de todo uma vez que é um polieletrólito. O aumento de condutividade que se consegue com a adição de 0,5% (m/v) de quitosano em solução só é conseguido com o aumento de 3% de PVA.

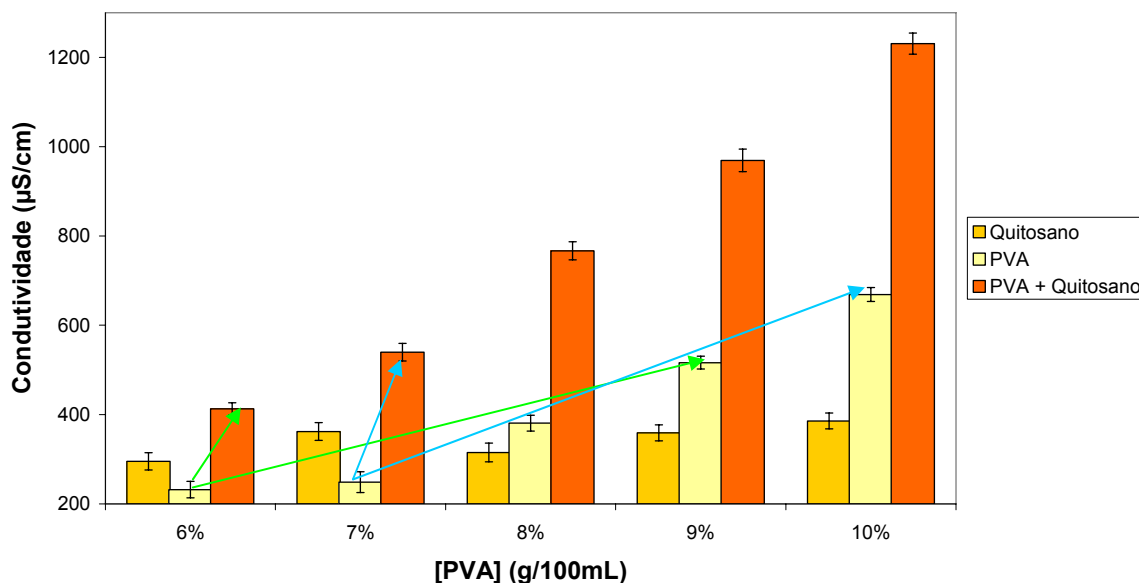


Figura 67: Gráfico relativo à Figura 66 sem a contribuição da condutividade do solvente.

No entanto, e apesar das soluções em que está presente PVA a 10% terem uma maior condutividade as fibras começam a ter diâmetros superiores. Provavelmente a concentrações superiores começam a verificar-se irregularidades e alguma heterogeneidade nos diâmetros das fibras (como se verifica no caso do sulfato de dextrano) devido à contribuição negativa que grandes viscosidades têm no processo.

5

CONCLUSÕES

A combinação do quitosano e do sulfato de dextrano em solução revelou-se infrutífera pois eles reagem entre si originando um complexo insolúvel de cor branca.

O composto resultante aparenta ter uma textura elástica e resistente, características que podem ser aproveitadas para conferir maior resistência e elasticidade à matriz. Para isso foram realizadas tentativas de produção de fibras através de duas soluções distintas, de sulfato de dextrano e quitosano respectivamente, com o objectivo de condicionar a reacção entre estes dois polímeros unicamente na matriz final.

Uma vez que a formulação de fibras de quitosano por electrospinning é condicionada pela utilização de soluções ácidas bastante concentradas foi necessário utilizar um polímero de suporte visando a utilização de solventes menos agressivos. A solução passou por incorporar uma pequena quantidade de quitosano (0,5%) numa solução de álcool polivinílico (9%) para que não conferisse demasiada viscosidade à solução, utilizando uma solução diluída de ácido acético (2%) como solvente.

Foi verificado que todas as fibras (PVA, PVA+quitosano e sulfato de dextrano) aumentam o seu diâmetro e tendem a fazer desaparecer os grânulos com o aumento da concentração do polímero. A presença de quitosano nas soluções de PVA tende a fazer diminuir as irregularidades das fibras (presença de grânulos e diâmetros com grande amplitude de valores).

Determinou-se que os valores de concentração de 9% (m/v) de PVA, 0,5% (m/v) de quitosano e 170% (m/v) de sulfato de dextrano seriam os mais apropriados para a combinação dos três polímeros na mesma matriz.

O aumento das concentrações é um aspecto positivo uma vez que aumenta a viscosidade do meio e a condutividade eléctrica, o resultado são fibras bem definidas sem a presença de grânulos. Contudo, concentrações bastante elevadas aumentam demasiado a viscosidade contribuindo para um aumento do diâmetro das fibras e para a sua irregularidade. Uma grande viscosidade funciona como força repressiva para o processo de ES, não permitindo o estiramento e a formação de fibras mesmo submetendo a solução a campos eléctricos muito elevados. O encontro das condições ideais a operar centra-se na combinação adequada de grandes condutividades eléctricas e viscosidades intermédias.

A presença de quitosano na matriz de álcool polivinílico torna o diâmetro das fibras mais regular, reforça a matriz mas diminui o seu alongamento. O aspecto microscópico da matriz composta pelos três polímeros é bastante interessante, particularmente os cruzamentos entre fibras. No entanto as propriedades mecânicas revelaram que esta é particularmente frágil fazendo notar que o sulfato de dextrano, quando combinado com o quitosano, torna a matriz quebradiça e pouco resistente.

Os ângulos de contacto que as matrizes estabelecem com a água dizem-nos que a matriz de PVA é a mais hidrofílica, que a adição de quitosano a torna mais hidrofóbica e menos absorvente, que a adição de SD lhe confere um carácter intermédio e irregular e que os três polímeros combinados originam um ângulo de contacto intermédio entre as matrizes PVA+Q e PVA+SD e uma absorção de água extremamente irregular.

De futuro ficam algumas propostas de continuidade do trabalho desenvolvido que passam por complementar as análises de condutividade eléctrica para as soluções de sulfato de dextrano e de ângulos de contacto com outros solventes

de diferentes polaridades para traçar um perfil mais preciso das matrizes aqui analisadas. Também seria interessante efectuar análises da capacidade de crescimento celular e actividade antimicrobiana das matrizes, incorporação de diferentes concentrações de quitosano e de quitosanos de diferentes massas moleculares.

6

BIBLIOGRAFIA

- [1] Toma, H. E. (2005) Interfaces e organização da pesquisa no Brasil: da Química à Nanotecnologia. *Química Nova*, 28: S48-S51.
- [2] Saunders, J. R.; Benfield, D.; Moussa, W.; Amirfazli, A. (2007) Nanotechnology's Implications for Select Systems of Renewable Energy. *International Journal of Green Energy*, 4(5): 483 - 503.
- [3] Huang, Z. M.; Zhang, Y. Z.; Kotaki, M.; Ramakrishna, S. (2003) A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63(15): 2223-2253.
- [4] Greiner, A.; Wendorff, J. H. (2007) Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(30): 5670-5703.
- [5] Xu, C. Y.; Yang, F.; Wang, S.; Ramakrishna, S. (2004) In vitro study of human vascular endothelial cell function on materials with various surface roughness. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 71A(1): 154-161.
- [6] Carampin, P.; Conconi, M. T.; Lora, S.; Menti, A. M.; Baiguera, S.; Bellini, S.; Grandi, C.; Parnigotto, P. P. (2007) Electrospun polyphosphazene nanofibers for in vitro rat endothelial cells proliferation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 80A(3): 661-668.

- [7] Jiang, H. L.; Hu, Y. Q.; Zhao, P. C.; Li, Y.; Zhu, K. J. (2006) Modulation of protein release from biodegradable core-shell structured fibers prepared by coaxial electrospinning. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials*, 79B(1): 50-57.
- [8] Buschle-Diller, G.; Cooper, J.; Xie, Z. W.; Wu, Y.; Waldrup, J.; Ren, X. H. (2007) Release of antibiotics from electrospun bicomponent fibers. *Cellulose*, 14(6): 553-562.
- [9] Townsend-Nicholson, A.; Jayasinghe, S. N. (2006) Cell electrospinning: a unique biotechnique for encapsulating living organisms for generating active biological microthreads/scaffolds. *Biomacromolecules*, 7(12): 3364-3369.
- [10] Kim, C. H.; Khil, M. S.; Kim, H. Y.; Lee, H. U.; Jahng, K. Y. (2006) An improved hydrophilicity via electrospinning for enhanced cell attachment and proliferation. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials*, 78B(2): 283-290.
- [11] Han, T.; Reneker, D. H.; Yarin, A. L. (2007) Buckling of jets in electrospinning. *Polymer*, 48(20): 6064-6076.
- [12] Ramakrishna, S. (2005) An Introduction to Electrospinning and Nanofibers. *World Scientific*.
- [13] Ju, Y. W.; Park, J. H.; Jung, H. R.; Lee, W. J. (2007) Electrochemical properties of polypyrrole/sulfonated SEBS composite nanofibers prepared by electrospinning. *Electrochimica Acta*, 52(14): 4841-4847.
- [14] Ferreira, P. (2007) Matriz fibrosa de Dextrano obtida por Electrospinning. Aveiro: Universidade de Aveiro - Departamento de Química.
- [15] Jiang, H. L.; Fang, D. F.; Hsiao, B. S.; Chu, B.; Chen, W. L. (2004) Optimization and characterization of dextran membranes prepared by electrospinning. *Biomacromolecules*, 5(2): 326-333.
- [16] Arayanarakul, K.; Choktaweessap, N.; Aht-ong, D.; Meechaisue, C.; Supaphol, P. (2006) Effects of poly(ethylene glycol), inorganic salt, sodium dodecyl sulfate, and solvent system on electrospinning of poly(ethylene oxide). *Macromolecular Materials and Engineering*, 291(6): 581-591.
- [17] Shenoy, S. L.; Bates, W. D.; Frisch, H. L.; Wnek, G. E. (2005) Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer-polymer interaction limit. *Polymer*, 46(10): 3372-3384.
- [18] Jarusuwannapoom, T.; Hongroijanawiwat, W.; Jitjaicham, S.; Wannatong, L.; Nithitanakul, M.; Pattamaprom, C.; Koombhongse, P.; Rangkupan, R.; Supaphol, P. (2005) Effect of solvents on electro-spinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers. *European Polymer Journal*, 41(3): 409-421.

- [19] Guner, A. (2004) The algorithmic calculations of solubility parameter for the determination of interactions in dextran/certain polar solvent systems. *European Polymer Journal*, 40(7): 1587-1594.
- [20] Pattamaprom, C.; Hongrojjanawiwat, W.; Koombhongse, P.; Supaphol, P.; Jarusuwannapoo, T.; Rangkupan, R. (2006) The influence of solvent properties and functionality on the electrospinnability of polystyrene nanofibers. *Macromolecular Materials and Engineering*, 291(7): 840-847.
- [21] Yarin, A. L.; Koombhongse, S.; Reneker, D. H. (2001) Taylor cone and jetting from liquid droplets in electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Physics*, 90(9): 4836-4846.
- [22] Rutledge, G. C.; Fridrikh, S. V. (2007) Formation of fibers by electrospinning. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(14): 1384-1391.
- [23] Wu, Y.; Carnell, L. A.; Clark, R. L. (2007) Control of electrospun mat width through the use of parallel auxiliary electrodes. *Polymer*, 48(19): 5653-5661.
- [24] Dumitriu, S.; de Belder, A. N. (1996) *Polysaccharides in Medicinal Applications*. New York: Marcel Dekker.
- [25] Heinze, T.; Liebert, T.; Heublein, B.; Hornig, S. (2006) Functional Polymers Based on Dextran. *Advances in Polymer Science*, 205: 199-291.
- [26] Flexner, C.; Barditchcrovo, P. A.; Kornhauser, D. M.; Farzadegan, H.; Nerhood, L. J.; Chaisson, R. E.; Bell, K. M.; Lorentsen, K. J.; Hendrix, C. W.; Petty, B. G.; Lietman, P. S. (1991) Pharmacokinetics, Toxicity, and Activity of Intravenous Dextran Sulfate in Human-Immunodeficiency-Virus Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35(12): 2544-2550.
- [27] Oncley, J. L.; Walton, K. W.; Cornwell, D. G. (1957) A Rapid Method for the Bulk Isolation of B-Lipoproteins from Human Plasma. *J. Am. Chem. Soc.*, 79(17): 4666-4671.
- [28] Moura, C.; Muszinski, P.; Schmidt, C.; Almeida, J.; Pinto, L. A. A. (2006) Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e sirii: avaliação do processo em escala piloto. *Vetor, Rio Grande*, 16(1): 37-45.
- [29] Covas, C. (2006) Estudios sobre Quitina y Quitosana. In *Facultad de Química*, Vol. Doctor, 95 Habana: Universidad de La Habana.
- [30] Yu, C.; Lee, A. M.; Bassler, B. L.; Roseman, S. (1991) Chitin utilization by marine bacteria. A physiological function for bacterial adhesion to immobilized carbohydrates. *J. Biol. Chem.*, 266(36): 24260-24267.
- [31] Abdou, E. S.; Nagy, K. S. A.; Elsabee, M. Z. (2008) Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99(5): 1359-1367.

- [32] Aoi, K.; Seki, T.; Okada, M.; Sato, H.; Mizutani, S.; Ohtani, H.; Tsuge, S.; Shiogai, Y. (2000) Synthesis of a novel N-selective ester functionalized chitin derivative and water-soluble carboxyethylchitin. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 201(14): 1701-1708.
- [33] Campana Filho, S. P.; Signini, R. (2001) Efeito de Aditivos na Desacetilação de Quitina. *Polímeros*, 11: 169-173.
- [34] Rinaudo, M.; Pavlov, G.; Desbrieres, J. (1999) Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer*, 40(25): 7029-7032.
- [35] Okuyama, K.; Noguchi, K.; Kanenari, M.; Egawa, T.; Osawa, K.; Ogawa, K. (2000) Structural diversity of chitosan and its complexes. *Carbohydrate Polymers*, 41(3): 237-247.
- [36] Canella, K.; Garcia, R. B. (2001) Caracterização de quitosana por Cromatografia de Permeação em Gel - Influência do método de preparação e do solvente. *Química Nova*, 24: 13-17.
- [37] dos Santos, J. E.; Soares, J. d. P.; Dockal, E. R.; Campana Filho, S. P.; Cavalheiro, É. T. G. (2003) Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. *Polímeros*, 13: 242-249.
- [38] Congress, U. S. (1993) Biopolymers: Making Materials Nature's Way. (Ed B. Paper). Washington: Government Printing Office.
- [39] Liu, J.; Zhang, J.; Xia, W. (2008) Hypocholesterolaemic effects of different chitosan samples in vitro and in vivo. *Food Chemistry*, 107(1): 419-425.
- [40] Sagoo, S.; Board, R.; Roller, S. (2002) Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. *Food Microbiology*, 19(2-3): 175-182.
- [41] Rhoades, J.; Roller, S. (2000) Antimicrobial Actions of Degraded and Native Chitosan against Spoilage Organisms in Laboratory Media and Foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(1): 80-86.
- [42] Harish Prashanth, K. V.; Tharanathan, R. N. (2007) Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential--an overview. *Trends in Food Science & Technology*, 18(3): 117-131.
- [43] Shepherd, R.; Reader, S.; Falshaw, A. (1997) Chitosan functional properties. *Glycoconjugate Journal*, 14(4): 535-542.
- [44] Shahidi, F.; Arachchi, J. K. V.; Jeon, Y. J. (1999) Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10(2): 37-51.
- [45] Agullo, E.; Rodriguez, M. S.; Ramos, V.; Albertengo, L. (2003) Present and future role of chitin and chitosan in food. *Macromolecular Bioscience*, 3(10): 521-530.

- [46] Qin, C. Q.; Li, H. R.; Xiao, Q.; Liu, Y.; Zhu, J. C.; Du, Y. M. (2006) Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 63(3): 367-374.
- [47] Min, B. M.; Lee, S. W.; Lim, J. N.; Young You; Lee, T. S.; Kang, P. H.; Park, W. H. (2004) Chitin and chitosan nanofibers: electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers. *Polymer*, 45: 7137-7142.
- [48] Geng, X.; Kwon, O. H.; Jang, J. (2005) Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*, 26: 5427-5432.
- [49] Tharanathan, R. N.; Kittur, F. (2003) Chitin - the undisputed biomacromolecule of great potential. *Critical Reviews on Food Science & Nutrition*, 43(1): 61-87.
- [50] Chiellini, E.; Corti, A.; D'Antone, S.; Solaro, R. (2003) Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials. *Progress in Polymer Science*, 28(6): 963-1014.
- [51] Chiellini, E.; Corti, A.; Del Sarto, G.; D'Antone, S. (2006) Oxo-biodegradable polymers - Effect of hydrolysis degree on biodegradation behaviour of poly(vinyl alcohol). *Polymer Degradation and Stability*, 91(12): 3397-3406.
- [52] Tao, J.; Shivkumar, S. (2007) Molecular weight dependent structural regimes during the electrospinning of PVA. *Materials Letters*, 61(11-12): 2325-2328.
- [53] Lin, T.; Fang, J.; Wang, H.; Cheng, T.; Wang, X. (2006) Using chitosan as a thickener for electrospinning dilute PVA solutions to improve fibre uniformity. *Nanotechnology*, 17: 3718-3723.
- [54] Wilks, E. S. (2001) *Industrial Polymers Handbook*. Wilmington: Wiley-VCH.
- [55] Zhou, Y. S.; Yang, D. Z.; Nie, J. (2006) Electrospinning of chitosan/poly(vinyl alcohol)/acrylic acid aqueous solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(6): 5692-5697.
- [56] Jia, Y. T.; Gong, J.; Gu, X. H.; Kim, H. Y.; Dong, J.; Shen, X. Y. (2007) Fabrication and characterization of poly (vinyl alcohol)/chitosan blend nanofibers produced by electrospinning method. *Carbohydrate Polymers*, 67: 403-409.
- [57] Lim, H. J.; Lee, S. J.; Bae, H. J.; Noh, S. K.; Lee, Y. R.; Han, S. S. (2007) Effects of the tacticities of poly(vinyl alcohol) on the structure and morphology of poly(vinyl alcohol) nanowebs prepared by electrospinning. *Journal of Applied Polymer Science*, 106(5): 3282-3289.
- [58] Jin, W. J.; Jeon, H. J.; Kim, J. H.; Youk, J. H. (2007) A study on the preparation of poly(vinyl alcohol) nanofibers containing silver nanoparticles. *Synthetic Metals*, 157: 454-459.

